

Aus dem Institut für Humangenetik der Philipps-Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. G. G. Wendt

**Elutionschromatographische Bestimmung
der Stabilität freier und gebundener
Aminosäuren in Vollblut und Serum
nach Aufbewahrung
unter verschiedenen Bedingungen**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn

vorgelegt von

Eleonore Langbein

aus Sondershausen

Marburg 1965

**Elutionschromatographische Bestimmung
der Stabilität freier und gebundener
Aminosäuren in Vollblut und Serum
nach Aufbewahrung
unter verschiedenen Bedingungen**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn

vorgelegt von

Eleonore Langbein

aus Sondershausen

Marburg 1965

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der
Universität Marburg am 14.12.1965

gedruckt mit der Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

Referent: Prof. Dr. med. G.G.Wendt

Correferent: Dozent Dr.med. H.G. Knauff

A	Historischer Überblick	Seite 1
B	Problemstellung	" 13
C	Methodik	" 14
	I. Angewandtes Verfahren	" 14
	II. Material	" 23
	III. Versuchsanordnung	" 23
D	Ergebnisse	" 26
	I. Nicht hydrolysierte Seren	" 26
	II. Hydrolysierte Seren	" 35
	III. Individuelle Besonderheiten	" 37
E	Diskussion	" 38
F	Zusammenfassung	" 45
G	Anhang	" 47
H	Literaturverzeichnis	" 66



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Historischer Überblick

- I. 1810 wurde Cystin als erste Aminosäure von WOLLASTON ⁴⁰ in einem Blasenstein entdeckt; doch eine Aufklärung der Cystinurie und weiterer Anomalien des Aminosäurestoffwechsels konnte aus Mangel an geeigneten technischen Verfahren erst mehr als 100 Jahre später erfolgen.

Eine Voraussetzung für spätere Untersuchungen erfüllten 1943 HAMILTON und VAN SLYKE. ⁶ Sie entwickelten eine durchführbare Methode zur Ermittlung der Gesamtaminosäurekonzentration. Es war eine Bestimmung des α -Aminostickstoffs durch die Ninhydrin-CO₂ Methode. Sie übertraf an Genauigkeit und Reproduzierbarkeit in biologischen Flüssigkeiten wie Harn und Blut schon früher bekannte Verfahren z.B. die Formeltitration von SOERENSEN, die kolorimetrische Bestimmung mit β -Naphthochinon nach FOLIN, die Ninhydrinreaktion nach RUHEMANN und die gasometrische Bestimmung des Aminostickstoffs nach VAN SLYKE. ⁹

Zur Bestimmung und Trennung der einzelnen Aminosäuren fand man eine sichere und einfache Methode in der Chromatographie. Chromatographische Verfahren sind bei der Trennung komplizierter Proteingemische und verwandter Stoffe sehr vielseitig anzuwenden. TURBA ³⁷ definiert sie folgendermaßen: "Die Chromatographie ist allgemein ein Verfahren, bei dem eine Lösung zu trennender Stoffe eine feste unlösliche Substanz, die in mehr oder

weniger fein verteilter (gepulverter oder gekörnter) Form vorliegt, in einer bestimmten Richtung durchströmt, wobei die einzelnen Komponenten, gleichgültig durch welchen Mechanismus - Adsorption, Ionenaustausch, Verteilung - selektiv verzögert werden."

Im Jahre 1906 trennte der russische Botaniker TSWETT ³⁶ mit Hilfe einer Adsorptionsmethode das Chlorophyll in seine beiden Komponenten a und b. Als Adsorptionsmittel verwandte er gepulvertes Calciumcarbonat, als Lösungsmittel Petroläther. Auf Grund der sich bildenden Farbzonen nannte er das Verfahren "Chromatographie". Die Adsorptionschromatographie beruht auf der unterschiedlichen Adsorptionsaffinität der einzelnen Bestandteile des Untersuchungsgemisches zum Adsorbens. Die Stoffe, bei denen sie am stärksten ist, werden zuerst an der Oberfläche des Adsorbens festgehalten und bilden die obere Zone, während die Stoffe mit geringerer Affinität erst später adsorbiert werden. Die so aufgetrennten Stoffe können aus der Säule freigesetzt werden, indem die Säule entweder mit einem anderen Lösungsmittel nachgewaschen und die abfließenden Zonen getrennt aufgefangen werden, oder die Säule wird ganz aus dem Rohr geschoben, zerschnitten und nach einzelnen Zonen getrennt eluiert.

Weitere Untersuchungen mit Hilfe der Adsorptionschromatographie führten u.a. KUHN und LEDERER, ¹¹

ZECHMEISTER ⁴¹ und Mitarbeiter an Pflanzenfarbstoffen aus. Später wandte man sich farblosen, speziell Eiweißspaltprodukten zu. (TURBA, ^{38,39} TISELIUS ³⁵).

1941 wurde von den englischen Forschern MARTIN und SYNGE ¹⁸ die Verteilungschromatographie entwickelt und in die Eiweißchemie eingeführt. Sie beruht auf der ungleichen Verteilung der Bestandteile einer Untersuchungssubstanz zwischen zwei verschiedenen Phasen: einem wasserhaltigen Trägerstoff (stationäre Phase) und einem mit Wasser nicht mischbaren, organischen Lösungsmittel (mobile Phase). MARTIN und SYNGE verwendeten als Trägerstoff Silikagel, als Lösungsmittel ein Gemisch von Butylalkohol und Chloroform. Die Aminogruppe wurde während des Auftrennungsvorganges durch Acetylierung geblockt. Es gelang den Autoren eine Trennung von 8 Aminosäuren in Form ihrer Acetylderivate: Phenylalanin, Leucin, Isoleucin, Valin, Methionin, Prolin, Tyrosin und Alanin. Die verschiedenen Aminosäuren wurden als sichtbare "Banden" einzeln aufgefangen und titriert. CONSDEN, GORDON und MARTIN ² führten das Prinzip der Verteilungschromatographie als Papierchromatographie fort.

Die Papierchromatographie in verschiedenen Ausführungen ist die verbreitetste und am häufigsten angewandte Methode der Chromatographie geworden. Sie ist einfach anzuwenden, nicht kostspielig, nicht zeitraubend und verbraucht sehr wenig

Untersuchungsmaterial. Als fester Trägerstoff dient hierbei Filtrierpapier. Durch die Papierchromatographie sind in kurzer Zeit viele Aminosäurengemische auf ihre Bestandteile untersucht worden. Ihr Hauptwert liegt darin, daß sie Reihenuntersuchungen ermöglicht; ihr nicht auszuschaltender Nachteil jedoch ist, daß sie nur eine qualitative im Höchstfall halbquantitative Methode darstellt.

Zur quantitativen Trennung der Aminosäuren trug die Einführung der Stärkesäulen bei. Sie wurden erstmals von ELSDEN und SYNGE⁴ erwähnt und von SYNGE³⁰ bei der Trennung eines Hydrolysates von Gramicidin angewandt. MOORE und STEIN²⁰ vervollkommeten diese chromatographische Methode durch eine zuverlässige und empfindliche Nachweisereaktion für Aminosäuren. Im Gegensatz zur Titration von SYNGE wandten sie die von RUHEMANN²⁹ beschriebene qualitative kolorimetrische Ninhydrinreaktion an, jedoch in einer von ihnen modifizierten quantitativen Form. Sie hatten erkannt, daß die früheren Mißerfolge dieser Methode für quantitative Untersuchungen durch Oxydationsvorgänge bedingt waren. Sie setzten daher dem Ninhydrinreagenz ein Reduktionsmittel (SnCl_2) zu und erhielten quantitative, reproduzierbare Werte für die einzelnen Aminosäuren. Nicht alle Aminosäuren werden gleich stark angefärbt. Der verschiedene, aber charakteristische Grad der Anfärbbarkeit der einzelnen Aminosäuren wird durch Bestimmung von

Eichfaktoren berücksichtigt.

An Stärkesäulen erreichten STEIN und MOORE ³² 1948 eine quantitative Chromatographie von 6 Aminosäuren: Phenylalanin, Leucin, Isoleucin, Methionin, Tyrosin und Valin mit einer Fehlerbreite von 3 % aus einem Gemisch von 18 Aminosäuren und Ammoniak entsprechend der Zusammensetzung des β -Lactoglobulins.

STEIN und MOORE verwandten Chromatographieröhren von 30 cm Höhe, als Trägerstoff Kartoffelstärke mit einem bestimmten Wassergehalt und als Lösungsmittel n-Butanol-Benzylalkohol-Wasser. Ein Fraktionskollektor fing die einzelnen Proben getrennt auf. Diese wurden auf den PH-Wert 5 gebracht, mit dem Ninhydrinreagenz versetzt und 20 Minuten bei 100° erhitzt. Das sind die Bedingungen einer optimalen Anfärbbarkeit. Der Aminosäuregehalt der einzelnen Proben wurde Photometrisch bestimmt bei einer Wellenlänge von 570 m μ für alle Aminosäuren, außer für Prolin und Hydroxyprolin, die bei einer Wellenlänge von 440 m μ bestimmt werden.

Durch Variation der Lösungsmittel gelang es MOORE und STEIN 1949 ²¹ eine zusätzliche Trennung von Prolin, Threonin, Asparaginsäure, Serin, Glycin, Ammoniak, Arginin, Lysin, Histidin und Cystin durchzuführen. Glutaminsäure erschien mit Alanin in einem gemeinsamen Gipfel; diese beiden Aminosäuren konnten aber in einem weiteren Chromatogramm mit

einem anderen Lösungsmittel getrennt werden. Auch Tryptophan konnte durch Zusatz wässriger HCl gesondert dargestellt werden. Es gelang an Stärkesäulen durch 3 aufeinanderfolgende Chromatogramme mit verschiedenen Lösungsmitteln aus einem Gemisch von 18 Aminosäuren alle Bestandteile quantitativ mit einer Fehlerbreite von $\pm 3\%$ zu trennen. Für ein Chromatogramm wurden 2,5 mg eines Aminosäuregemisches gebraucht. Eine vollständige Analyse wurde in etwa zwei Wochen beendet.

Obwohl alle einfachen Aminosäuren erstmals an Stärkesäulen getrennt wurden, haben diese doch beträchtliche Nachteile, z.B. mußten alle Flüssigkeiten mit hohem Salzgehalt wie Plasma und Harn von der Analyse entsalzt werden. Außerdem kam es durch die Kohlehydrate des Trägerstoffes zu Verunreinigungen des Eluats.

1951 begannen MOORE und STEIN²² mit Ionenaustauschersäulen zu arbeiten, die diese Nachteile nicht aufweisen und eine viel größere auftrennende Eigenschaft besitzen. Auch den Zeitaufwand konnten sie durch die Elutionschromatographie an Ionenaustauschersäulen abkürzen. Sie brauchten für eine Analyse nur noch Tage gegenüber einer Dauer von Wochen bei der Bestimmung an Stärkesäulen.

Die Ionenaustauschchromatographie war nicht etwas prinzipiell Neues, (Übersicht früherer Arbeiten bei

MARTIN und SYNGE ¹⁹⁾. Zu großer technischer Vollkommenheit wurde dieses Verfahren jedoch von MOORE und STEIN entwickelt. Die Ionenaustauschchromatographie beruht, wie der Name sagt, auf einem Austausch von Anionen bzw. Kationen zwischen dem Trägerstoff und der zu untersuchenden Substanz. Der reaktionsfähige Trägerstoff ist ionisiert und hält ein Gegenion in lockerer Bindung, das im Verlauf eines Auftrennungsvorganges gegen ein anderes Ion mit gleichartiger Ladung ausgetauscht werden kann. Im Gegensatz zu der Adsorptionschromatographie, bei der nur Oberflächenlagerung stattfindet, reagieren hierbei Austauscher und aufzutrennende Substanz durch elektrochemische Kräfte, durch Ionenaustausch an der Oberfläche wie im Innern der Gitter, die die Austauscher bilden. Die Auftrennung der Bestandteile eines Gemisches ist dadurch möglich, daß die einzelnen Ionen des Untersuchungsmaterials sich verschieden leicht gegen die Ionen des Trägerstoffes austauschen und so mehr oder weniger schnell durch die Säule mitgeführt werden.

Als Austauscher verwendet man meistens Kunsthharze. MOORE und STEIN benutzten Chromatographieröhre (100/0,9 cm für die sauren und neutralen Aminosäuren, 15/0,6 cm für die basischen Aminosäuren), gefüllt mit einem sulfonierten Kunsthharzaustauscher

Dowex 50.

Die Säulen sind mit einem heizbaren Wassermantel umgeben, da die Auftrennung von Aminosäuren an Ionenaustauschern im Gegensatz zu der an Stärkesäulen nur bei höheren Temperaturen gelang und eine genaue Temperaturregelung nötig wurde. Die sauren und neutralen Aminosäuren wurden mit Puffern von ansteigenden PH (3,4 - 11), die basischen mit einem Puffer vom PH 7 eluiert. Alle Puffer wurden mit einer Brij-35 Lösung versetzt (1 cm^3 auf 100 cm^3). Brij ist Polyäthylenglycolmonoäthyläther und wird als Netzmittel verwandt, damit das Untersuchungsgemisch nicht in Kanälen durch die Säule läuft. Es ist neutral und stabil. Um ein Quellen und Schrumpfen der Säulenfüllung zu vermeiden, hatten alle Puffer die gleiche Natrium-Ionen-Konzentration. Verluste von Methionin durch Oxydation wurden durch Zugabe von Thiodiglykol vermieden. Nach einem Chromatogramm mußten die langen Säulen mit 0,2n NaOH regeneriert werden, d.h. von den nicht eluierten basischen Aminosäuren und Verunreinigungen durch andere im Untersuchungsgut enthaltenen Ionen gereinigt werden. Anschließend wurde die Säule mit einem Puffer vom PH-Wert 3,4 nachgewaschen und war wieder gebrauchsfertig. Die kurze Säule kann ohne Regeneration immer wieder gebraucht werden, da die meisten Gemische keine ninhydrin-positiven Bestandteile enthalten, die langsamer als Arginin eluiert werden.

Für ein Chromatogramm waren 3 - 6 mg eines Amino-

säuregemisches erforderlich. Die einzelnen Aminosäuren konnten mit einer Fehlerbreite von $\pm 3\%$ bestimmt werden. Allgemein ist die Trennung an Kunstharzsäulen von folgenden Faktoren abhängig:

1. Von der Partikelgröße des Austauschharzes
2. Vom PH-Wert der Puffer
3. Von der Temperatur
4. Von der Säulenlänge
5. Von der einheitlichen Säulenfüllung
6. Vom gleichmäßigen Pufferdurchfluß

Durch Variation dieser Faktoren kann die Ionenaustauschchromatographie verschiedenen Aufgaben angepaßt werden.

1954 verbesserten STEIN und MOORE ^{23, 24} ihre Methode durch geringfügige Veränderungen. Längere Säulen, ein anderer Austauscher (Dowex 50 x_4 statt Dowex 50 x_8), Puffer von anderem PH-Wert (3,1 - 5,1) und ein modifiziertes Ninhydrinreagenz erlaubten ihnen eine Bestimmung fast aller Aminosäuren in ungefähr 48 Stunden in einem einzigen Chromatogramm mit einer Fehlerbreite von $\pm 3\%$.

1958 gelang SPACKMANN, STEIN und MOORE ^{31, 25, 26} durch Automatisierung und Verwendung von feineren Austauscherharzen eine vollständige Analyse in weniger als 24 Stunden. Als Austauscher wurde Amberlite IR-120, ein stark saurer Kationenaustauscher

(Austauschergruppe HSO_3^-) als fein pulverisierter Puder verwandt. Die einzelnen Partikel hatten eine Größe von ungefähr 40μ . Die Gleichmäßigkeit der Teilchengröße erreichten sie durch eine Vorbehandlung des Austauschers mit dem Hamilton'schen ⁷ Flowmeter. Partikelgröße und Durchflußgeschwindigkeit stehen in einem bestimmten Verhältnis zueinander. Eine Partikelgröße von 40 micron gestattet eine Durchflußgeschwindigkeit von 30 ml/Std. Die Gleichmäßigkeit dieser Pufferdurchflußrate wurde durch Pumpenvorrichtungen gewährleistet.

Als Puffer wurden für die lange Säule Citratpuffer vom PH-Wert 3,25 und 4,25 verwandt mit einem Pufferwechsel vor dem Valvingipfel; für die kurze Säule verwandten die Autoren einen Puffer vom PH-Wert 5,28.

Die Säulenlänge betrug 150/0,9 cm für die sauren und neutralen Aminosäuren und 15/0,9 cm für die basischen Aminosäuren. Die Wassermanteltemperatur für die lange Säule betrug zu Anfang der Analyse 30° , nach dem Pufferwechsel wurde sie auf 50° umgestellt. Die kurze Säule wurde während der ganzen Analyse mit einer Temperatur von 50° beheizt.

Automatisiert wurde hauptsächlich die Bestimmung der Aminosäurekonzentration des aus der Säule abfließenden Eluats. Dieses wurde nicht mehr in einzelnen Fraktionen in einem Kollektor aufgefangen, mit dem Ninhydrinreagenz versetzt und nacheinander

photometriert. Bei der automatisierten Apparatur wurde das Ninhydrinreagenz dem Eluat aus einer Pumpenvorrichtung kontinuierlich mit einer Geschwindigkeit von 15 ml/Std. zugeführt. Auch für die Beschickung der Säulen mit Pufferlösung wurden Pumpen verwendet. Hierbei betrug die Durchflußgeschwindigkeit jedoch 30 ml/Std. Daher wurde eine konstante Mischung von Ninhydrinreagenz- und Puffergemisch im Verhältnis von 1 : 2 erreicht. Dieses Ninhydrin-Puffergemisch wurde durch einen Teflonschlauch geleitet, der sich aufgerollt in einem Wasserbad befand. Der Teflonschlauch hatte einen geringen Durchmesser, (0,7 mm) um eine Vermischung der einzelnen Fraktionen zu verhindern. Seine Länge war so berechnet, daß die Lösung 15 Minuten in dem Wasserbad verweilte. In dieser Zeit fand die Anfärbung der Aminosäuren statt. Die aus dem Teflonschlauch austretende Lösung, die die angefärbten Aminosäuren getrennt enthielt, durchlief eine schmale Küvette eines angeschlossenen Photometers. Die Messung der Extinktionen erfolgte bei den Wellenlängen von 570 μ (mit zwei verschiedenen Schichtdicken der Messküvette) und 440 μ . Die Registrierung erfolgte selbsttätig mit einem Punktschreiber auf logarithmisches Papier. Man erhielt drei Kurven, deren Flächen nach einem numerischen Verfahren berechnet wurden.

Als Vorteile der Automatisierung der Säulenchromatographie sind der kürzere Zeitaufwand, der geringere Arbeitsaufwand und die Ausschaltung vieler

subjektiver Fehler zu werten.

STEIN und MOORE trennten mit dieser Methode über 50 ninhydrinpositive Stoffe. Für ein Chromatogramm wurden 1-2 mg eines Aminosäuregemisches benötigt. Eine vollständige Analyse wurde in etwa 24 Std. beendet.

Die Erforschung der Pathogenese, die Sicherung der Diagnose und die Überprüfung des Behandlungserfolges von erblichen Aminosäurestoffwechselkrankheiten 13, 14, 1, 15 sowie die Erkennung der heterozygoten Merkmalsträger dieser Erkrankungen ist wesentlich mit Hilfe der chromatographischen Verfahren, nicht zuletzt auch der Elutionschromatographie erfolgt. Die Methodik wird ständig verbessert. Hier sollten nur die Grundzüge der Entwicklung aufgezeigt werden, die der von uns angewandten Methode vorausging.

B Problemstellung

Im Institut für Humangenetik der Universität Marburg/Lahn wurde mit einer Untersuchung begonnen, bei der die Vererbung des normalen Aminosäurespektrums geprüft und nach qualitativen und quantitativen Besonderheiten dieses Spektrums bei einigen Erbkrankheiten, besonders bei der Chorea Huntington gefahndet werden soll.

Unsere Untersuchungen werden an Patienten aus dem gesamten Bundesgebiet durchgeführt. Ein Teil der Patienten kann nach Marburg kommen. Die dabei entstehenden Kosten und der reduzierte Gesundheitszustand der Kranken schränken diese Möglichkeit jedoch erheblich ein. Die größere Zahl der Patienten wird deshalb in ihrer Wohnung oder bei stationärer Behandlung in der jeweiligen Klinik aufgesucht. Dadurch ergibt sich für uns die Frage, welchen Belastungen das zu untersuchende Blut bei einem Transport ausgesetzt werden darf, ohne daß dadurch das Aminosäurespektrum entstellend verändert wird.

Da in allen Kliniken und Instituten, in denen Aminosäuren im Plasma oder Serum bestimmt werden, die Möglichkeit der sofortigen Bearbeitung des Untersuchungsgutes besteht, konnten wir über den Einfluß von verschieden langer Aufbewahrung bei unterschiedlichen Temperaturbedingungen sowie bei Schütteln der Blutproben, das sich bei einer Autofahrt nicht vermeiden läßt, keine Auskunft erhalten.

Vor der Durchführung des Programms mußten daher folgende Fragen beantwortet werden:

1. Kann eine Blutprobe ohne Änderung der Aminosäurekonzentration 1, 2 und 3 Tage lang aufbewahrt werden?
2. Wie verändert sie sich unter dem Einfluß verschiedener Temperaturen?
3. Verträgt sie 4-stündiges Schütteln entsprechend einer ebensolangen Autofahrt?
4. Wäre eine Untersuchung nach Postversand der Probe noch auswertbar?

In dieser Arbeit sollen die Ergebnisse der hierfür notwendigen Untersuchungen und ihre Auswertung mitgeteilt werden.

C Angewandte Methodik

- I. Wir arbeiten mit einer von HANNIG⁸ (Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung, München) entwickelten Apparatur zur quantitativen Aminosäurebestimmung an Ionenaustauschersäulen mit automatischer Registrierung der Ergebnisse.



Abb. 1 Foto der von HANNIG entwickelten Apparatur

Dieses Gerät wurde nach den Erfahrungen von MCOFFE und STEIN gebaut, ist aber technisch selbstständig entwickelt worden. Es ist einfacher und preiswerter. Im Gegensatz zu dem Gerät von STEIN und MOORE, das in einem schrankähnlichen Gehäuse untergebracht ist, besteht die Hannigapparatur aus drei einzelnen, freistehenden Teilen:

1. dem Schaltaggregat mit dem Motor und vier Druckzylindern, den Auflaufsicherungen, der Startstoppuhr, dem Mischgerät mit Magnetrührer;
2. dem Stativ mit drei Ionenaustauschersäulen (zwei langen und einer kurzen), dem Thermostaten mit der Umlaufpumpe, dem Misch-T-Stück, in dem sich Ninhydrinreagenz und Eluat mischen, der Pilzhaube mit Reaktionskolben, in dem der Teflonschlauch aufgerollt ist;
3. dem Elphor-Integraphen mit Durchlaufküvette zur photometrischen Messung und Registrierung der Extinktionen.

1. Eine besondere Veränderung gegenüber der STEIN-MOORE'schen Apparatur bilden der Motor und die Druckzylinder für die Puffer und für das Ninhydrinreagenz. Sie enthalten gut eingeschliffene Kolben mit Dichtungsringen, die durch den Synchronmotor gleichmäßig bewegt, durch Druck Puffer und Ninhydrinreagenz austreiben. Drei Zylinder sind mit Pufferlösung, ein vierter mit Ninhydrinreagenz gefüllt. Die Austreibungs geschwindigkeit beträgt - wie bei STEIN und MOORE - für die Puffer 30 ml/Std., für das

Ninhydrinreagenz 15 ml/Std. Die Pufferlösung wird durch einen Siliconschlauch von den Zylindern auf die Säule geleitet, der Puffer durchwandert gleichmäßig die Säule, so daß das vorher aufpipettierte Untersuchungsmaterial aufgetrennt wird. Das Ninhydrinreagenz wird durch einen Siliconschlauch dem aus der Säule abfließenden Eluat zugeführt. Die Zylinder werden nach Unterbrechung der Verbindung zur Säule mit einer Handkurbel neu aufgefüllt.

Die Auflaufsicherungen unterbrechen den Stromkreis etwa 2 cm vor dem Aufstoßen der Kolben auf den Zylinderboden (z.B. bei ungenügender Füllung der Zylinder) und verhindern so die Beschädigung der Apparatur.

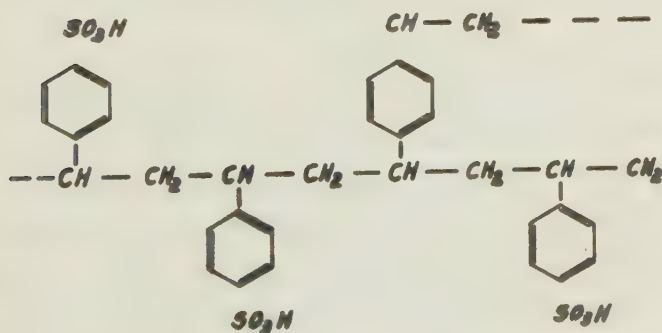
Die Startstoppuhr schaltet das Gerät nach einer vorausberechneten Zeit d.h. nach beendeter Analyse ab. Auf das Puffermischgefäß wurde bei unseren Untersuchungen verzichtet, da es sich bei der Wahl unserer Puffer als überflüssig erwies. ²⁷

Wir verwenden ausschließlich NaCitratpuffer mit den Bestandteilen Natronlauge, Citronensäure, Salzsäure, zur Konservierung Phenol und als Netzmittel Brij 35. Den Puffern für die lange Säule wird noch Thiodiglycol zugegeben, um eine Veränderung der schwefelhaltigen Aminosäuren zu vermeiden.

In Abänderung der von Hannig angegebenen Puffer vom PH-Wert 3,1 - 5,1 arbeiten wir nach STEIN und MOORE mit Puffern vom PH-Wert 3,10 und 4,10 für die lange Säule. Die Analysen beginnen mit einem Puffer vom

PH-Wert 3,10 und werden nach dem Prolingipfel auf einen Puffer vom PH-Wert 4,10 umgestellt. Die kurze Säule wird mit einem Puffer vom PH-Wert 4,20 eluiert.

2. Die Apparatur besitzt wie die von STEIN und MOORE drei Säulen zwei 115/0,9 cm lange Säulen zur Auftrennung der sauren und neutralen Aminosäuren und eine 50/0,6 cm lange Säule zur Auftrennung der basischen Aminosäuren. Die Säulen sind mit Heizmänteln umgeben, die an einen Thermostaten angeschlossen sind. Die sauren und neutralen Aminosäuren werden bei einer Manteltemperatur von 50° aufgetrennt, die basischen Aminosäuren bei einer Anfangstemperatur von 25°, die nach Erscheinen des Histidingipfels auf 50° erhöht wird. Als Austauscher wird ein Kunstharz, der Kationenaustauscher Amberlite CG 120 III AS, ein hochpolymeres Polystyrolsulfonsäureharz verwandt.



Wir beziehen ihn mit einer Partikelgröße von 35_{μ} - 45_{μ} gebrauchsfertig* und können daher auf das Sieben oder eine Größenauswahl der einzelnen Partikel mit dem Hamilton'schen Flowmeter²⁵ verzichten. Die aktive Gruppe unseres Austauschers ist die Sulfonsäuregruppe $-SO_3H$. Von ihr ist das $-SO_3$ Ion fest in das Polystyrolgerüst eingebaut, während das H-Ion gegen andere Ionen ausgetauscht werden kann. Vor dem Einfüllen des Austauschers in die Säulen muß er in Wasser aufquellen. Erst dann ist er zum Ionenaustausch brauchbar. Die SO_3H - Gruppe wird durch das Wasser ionisiert.

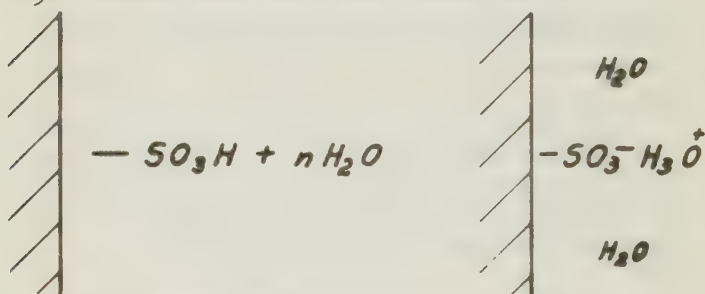
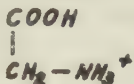


Abb. 2 Trockenes und wassergequollenes Sulfonsäure-Harz nach MAHR.¹⁷

Die H_3O Ionen können sich aus elektrochemischen Gründen nicht vom Ion des Gerüsts lösen; sie bleiben solange gekoppelt, bis sie durch die Na Ionen des durchfließenden Natriumcitratpuffers verdrängt und ersetzt werden. In diesem Zustand des Austauschers wird das Untersuchungsgemisch auf die

* Serva Entwicklungslabor Heidelberg

Säule aufgetragen. Die Aminosäuren, die im sauren Bereich unserer Puffer ebenfalls als Kationen



vorliegen verdrängen nun ihrerseits die elektrostatisch gebundenen Na Ionen. Sie selbst werden wiederum gegen Na Ionen des nachfließenden Puffers ausgetauscht. Wenn alle Aminosäuren eluiert werden, wie das bei Analyse der basischen Aminosäuren der Fall ist, ist die Säule sofort wieder gebrauchsfähig, der Austauscher liegt wieder in der reaktionsfähigen Na^+ Form vor.

Harz	Lösung	Harz	Lösung	Harz	Lösung
$\text{SO}_3^- \text{H}_3\text{O}^+$	$\text{Na}^+ \text{Na}^+$	$\text{SO}_3^- \text{Na}^+$	H_3O^+	$\text{SO}_3^- \text{NH}_3^+ - \text{R}$	Ce^-
$\text{SO}_3^- \text{H}_3\text{O}^+$	Ce^-	$\text{SO}_3^- \text{Na}^+$	Ce^-	$\text{SO}_3^- \text{NH}_3^+ - \text{R}$	Na^+
$\text{SO}_3^- \text{H}_3\text{O}^+$	$\text{Na}^+ \text{Ce}^-$	$\text{SO}_3^- \text{Na}^+$	H_3O^+	$\text{SO}_3^- \text{NH}_3^+ - \text{R}$	Na^+

Da sich nach beendeter Analyse der sauren und neutralen Aminosäuren die langsamer wandernden basischen Aminosäuren noch in der Säule befinden, müssen die langen Säulen nach beendeter Analyse regeneriert, d.h. mit NaOH nachgewaschen werden. Die Zugabe des Farbreagenzes zum Eluat der Säule geschieht in einer Mischkapillare, dem sogenannten T-Stück. Hier fließen Eluat und Ninhydrinreagenz im Verhältnis 2 : 1 zusammen, entsprechend der verschiedenen Austreibungszeit von Puffer und Ninhydrinreagenz aus den Zylindern. Das Ninhydrinreagenz wird hergestellt aus einem konzentrierten

Naacetatpuffer, peroxydydfreien Methylglycol (Kaliumjodidprobe), Ninhydrin und als Reduktionsmittel SnCl_2 . Das Ninhydrinreagenz ist lichtempfindlich und nur bedingt haltbar.

Die Farbreaktion der eluierten Aminosäuren mit dem Ninhydrinreagenz findet in einem Teflonschlauch von 1 mm lichter Weite statt, der in siedendem Wasser in einem Reaktionskolben aufgerollt ist.

Alle Aminosäuren färben sich blau an, außer Prolin, das eine gelbe Farbe hervorruft.

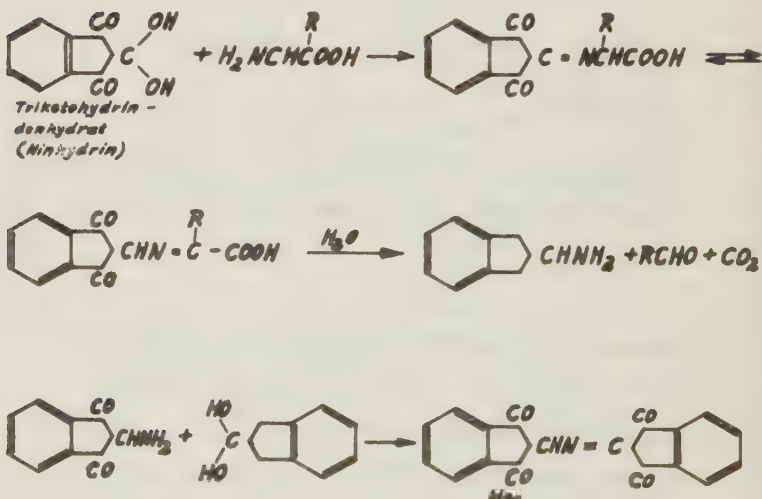


Abb. 3. Ninhydrinreaktion der α -Aminosäuren

3. Die angefärbte Flüssigkeit gelangt aus dem Teflonschlauch in eine Durchlaufküvette des Integrappen, in dem die Anfärbung der Aminosäuren in monochromatischem Licht gemessen wird. Der Integrapph funktioniert folgendermaßen:

Vor eine Quecksilberlampe wird ein gelber Filter für die sich blau anfärbenden Aminosäuren vorgeschaltet und ein blauer Filter für Prolin, da seine größte Absorption bei $436\text{ m}\mu$ liegt. Oberhalb und unterhalb der Küvette befindet sich je eine Photozelle, die miteinander verbunden sind.

Bei Bestrahlung durch die Quecksilberlampe senden beide Photozellen einen Strom aus. Diese Ströme heben sich auf, wenn die Lichtintensität, mit der beide Photozellen getroffen werden, gleich ist. Die untere Photozelle wird durch die Quecksilberlampe direkt beleuchtet, während die obere Photozelle nur soviel Licht erhalten kann wie durch die Küvette hindurchtritt. Da die obere Photozelle bei Durchfluß der Küvette mit einer dunklen Flüssigkeit weniger Licht als die untere Photozelle erhält, sendet sie dann weniger Strom aus. Durch den überschüssigen Strom der unteren Photozelle wird eine logarithmische Blende bewegt, die sich soweit vor die untere Photozelle schiebt, bis sie die gleiche Menge Licht wie die obere erhält. Je stärker die Färbung der Untersuchungslösung, desto länger der Weg, den die logarithmische Blende zurücklegen muß, um eine gleiche Lichtintensität für beide Photozellen zu erreichen, und desto höher ist der gelochte Wert der Kurve. Bei farblosen Flüssigkeiten wird eine Gerade, die Basislinie, geschrieben.

Bei der STEIN und MOORE'schen Apparatur wird keine logarithmische Blende verwandt, so daß die Auf-

zeichnung der Kurven auf logarithmischem Papier erfolgen muß.

Wir erhalten zwei übereinanderliegende Kurven entsprechend den Messungen bei den Wellenlängen von 578 m und 436 m .

In einem vollständigen Chromatogramm an der langen und kurzen Säule werden 22 Aminosäuren, Harnstoff, Taurin und Ammoniak getrennt. Ammoniak wird nicht ausgewertet. 1,5 - 2,5 mg Untersuchungssubstanz werden benötigt.

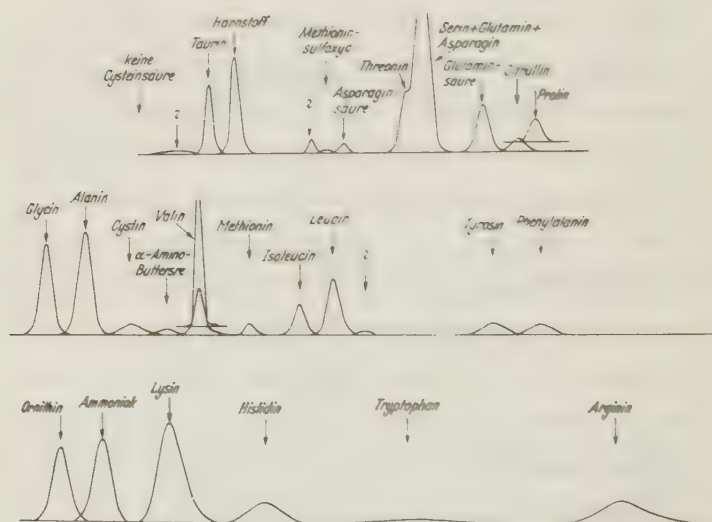


Abb. 4 Kurvenbeispiel

Unter Berücksichtigung der verschiedenen Anfärbbarkeit der einzelnen Aminosäuren durch das Ninhydrinreagenz beziehen wir uns bei der Berechnung der absoluten Aminosäurewerte auf ein genau eingewogenes Testamino-säuregemisch. Die mit reinen Amino-

säuretestgemischen errechneten Fehlerbreite der Apparatur liegt bei uns nicht über der von Hannig mit $\pm 3,02\%$ angegebenen.

Eine Analyse der sauren und neutralen Aminosäuren wird nach 13 Stunden, eine Analyse der basischen Aminosäuren nach 11 Stunden beendet.

- II. 41 Analysen wurden säulenchromatographisch ausgewertet. Das Blut wurde von 5 Patienten (39, 26¹) der Medizinischen Universitätsklinik im Alter von 40-72 Jahren (Durchschnittsalter 59,8 Jahre) in 9 verschiedenen Aderlässen gewonnen. Bei 3 Aderlässen waren die Versuchspersonen nüchtern, bei 6 Aderlässen wurden die Seren nicht nüchternen Versuchspersonen entnommen. Die Kranken litten an Polycythämie und Polyglobulie. Deshalb waren, um ausreichend Serum für eine Analyse zu bekommen, Portionen von über 70 ml Blut nötig, während bei Gesunden 50 ml vollauf genügen.
- III. Das Blut wurde in Zentrifugengläsern in einzelnen Portionen aufgefangen und je nach verschiedener Versuchsordnung getrennt behandelt. Eine Probe von jedem Aderlaß wurde sofort, d.h. höchstens zwei Stunden nach der Entnahme weiterverarbeitet.

Nach Spontangerinnung wurde das Blut 10 Minuten bei 3000/Min. Umdrehungen zentrifugiert, um das Serum von den zellulären Bestandteilen zu trennen. Eine höhere Umdrehungszahl birgt die Gefahr der Hämolyse in sich. Das nach dem Zentrifugieren überstehende

Serum wurde vorsichtig abgesaugt und abgemessen in ein weiteres Zentrifugenglas gegeben. Mit 20 %iger Trichloressigsäure ⁵ der gleichen Menge, also im Verhältnis 1 : 1, wurde das Serum unter Umrühren mit einem Glasstab enteiweißt. Die Proteine flockten aus und wurden in 10 Minuten bei einer Umdrehungszahl von 4-5000/Min. vollständig abzentrifugiert. Der klare Fällungsüberstand wurde durch ein Faltenfilter in einen Schüttelzylinder gegeben und darin zur Entfernung der Lipide 3 mal mit 20 ml Aether ausgeschüttelt. Der Aether wurde, nachdem er sich vom Fällungsüberstand abgesetzt hatte, um kein Untersuchungsmaterial zu verlieren, sehr vorsichtig abgesaugt. Das enteiweißte Serum wurde nach dem Ausäthern bis zur Analyse in einem Plastikfläschchen im Tiefkühlfach bei einer Temperatur von - 15° aufbewahrt.

Vor der Analyse wurde die jeweilige Probe in einen Spitzkolben gefüllt und am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingengt. Die Trockene wurde mit einem Puffer vom PH-Wert 2,2 auf 1/10 der Serumausgangsmenge aufgefüllt. Diese Konzentrierung des Untersuchungsmaterials ist notwendig, um eine scharfe Auftrennung zu erreichen. Bei größerer Menge wäre ein Start von einer Ebene aus nicht mehr möglich. In entsprechender Menge wurde die Untersuchungssubstanz auf die Säulen aufgetragen:

0,8 - 1,0 ml auf die kurze Säule
entsprechend 8 - 10 ml Serum

0,3 - 0,5 ml auf die lange Säule

entsprechend 3 - 5 ml Serum.

Einige Proben wurden hydrolysiert, d.h. 0,5 ml der konzentrierten Untersuchungssubstanz wurden mit 15 ml 6N HCl 6 Stunden einer Temperatur von 120° in einem Sandbad ausgesetzt. Durch Hydrolyse gehen Asparagin und Glutamin, die bei nicht hydrolysierten Proben mit Serin und Threonin in einem gemeinsamen Gipfel erscheinen, in Asparaginsäure bzw. Glutaminsäure über. Dadurch wird eine isolierte Trennung von Serin und Threonin erreicht. Außer der sofort nach der Entnahme verarbeiteten Bezugsprobe, wurden die anderen Proben vor Beginn der Aufbereitung, unserer Fragestellung entsprechend, verschiedenen Aufbewahrungs- bzw. Transportbedingungen ausgesetzt. So wurden Proben vor der Aufbereitung: 24 Std., 48 Std. oder 72 Std.

als Serum oder Vollblut

bei Temperaturen von $+20^{\circ}$ oder $+4^{\circ}$ aufbewahrt, oder 4 Stunden als Vollblut geschüttelt.

Um zusätzliche Fehlerquellen der Gesamtmethode (einschließlich der Aufbereitung des Serums) zu erfassen, wurde eine 6 fach-Bestimmung am Nüchternserum einer gesunden Versuchsperson im Alter von 22 Jahren analysiert. Dabei betrug die methodische Fehlerbreite im Durchschnitt $\pm 4,82\%$ (ohne Cysteinsäure). Bei nur in geringer Menge oder nicht einwandfrei getrennten Aminosäuren betrug sie bis zu $\pm 23,76\%$ (α -Aminobuttersäure), bei Cysteinsäure sogar $\pm 34,7\%$.

D I. Tabelle 1 zeigt die methodische Fehlerbreite
(siehe Anhang)

Ergebnisse:

Unser Material bestand, wie oben erwähnt, zum größten Teil aus Nichtnüchternseren. Die Unterschiede zwischen den Aminosäurewerten der einzelnen Bezugsproben sind zum Teil auf diesen Umstand zurückzuführen.

Tabelle 2 zeigt die Unterschiede der Aminosäurewerte der einzelnen Bezugsproben. (siehe Anhang)

Bei der Auswertung der Ergebnisse wurden nur Proben des gleichen Spenders und der gleichen Blutentnahme miteinander verglichen.

Nach ihrer Stabilität bei den einzelnen Versuchsanordnungen mit Serum- und Vollblutproben sämtlicher Aderlässe unterscheiden wir vier Gruppen von Aminosäuren.

Gruppe 1 Werte nahezu konstant

Gruppe 2 Werte wechselnd ohne einheitliche Tendenz

Gruppe 3 Werte wechselnd mit angedeuteter Tendenz

Gruppe 4 Werte mit deutlicher Tendenz

Threonin und Serin konnten bei den nicht hydrolysierten Seren nicht getrennt dargestellt werden.

Gruppe 1:

Bei folgenden Versuchsanordnungen entsprechen bei allen untersuchten Proben einige Aminosäuren nahezu, d.h. $\pm 10\%$ der jeweiligen Bezugsprobe:

Serumaufbewahrung bei

+ 4°

+ 20°

nach 24 Std.

nach 24 Std.

Glycin

Ornithin

Alanin

Lysin

Leucin

Histidin

Arginin

nach 48 Std.

nach 48 Std.

Alanin

Lysin

Leucin

Andere Aminosäuren zeigen nur bei einzelnen Proben eine ähnliche Stabilität.

Bei Vollblutaufbewahrung (schon nach 24 Std.), bei sofort nach dem ersten Zentrifugieren hämolytisch gewordenen Seren und bei 4 Stunden geschüttelten Proben gibt es keine Aminosäure, deren Konzentration bei allen Proben nahezu konstant bleibt.

Gruppe 2:

Die Werte folgender Aminosäuren überschreiten bei Serum- und Vollblutproben fast aller Aderlässe die 10 % Grenze, lassen aber keine einheitliche Tendenz erkennen:

Cysteinsäure

Methionin

Taurin

Tyrosin

Harnstoff

Valin

Citrullin

Isoleucin

Prolin

Phenylalanin

ℳ-Aminobuttersäure

Abb. 5 zeigt die prozentuale Abweichung der Aminosäurewerte aus Gruppe 2 von den Bezugsproben (=0) bei verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen. (siehe Anhang)

Die individuellen Besonderheiten der verschiedenen Versuchspersonen, die sich in dem Verhalten der Aminosäuren, Prolin, Citrullin, Tyrosin und Phenylalanin zeigen, werden unten (III) beschrieben.

Gruppe 3:

In diese Gruppe sind folgende Aminosäuren einzuordnen:

Alanin	Tryptophan
Leucin	Arginin
Ornithin	Lysin
Histidin	

Bei den angewandten Aufbewahrungsbedingungen zeigen diese Aminosäuren wechselnde Werte mit einer ange deuteten Tendenz im Sinne einer Zunahme ihrer Konzentration mit Ausnahme von Arginin, das eine angedeutete prozentuale Abnahme der Konzentration zeigt.

Es läßt sich eine Abhängigkeit feststellen von:

1. Dem Ausgangsmaterial - Serum oder Vollblut
2. Der Aufbewahrungstemperatur- + 4° oder + 20°
3. Der Aufbewahrungszeit - 24 Std., 48 Std. oder 72 Std.

Entscheidend ist, ob die Proben zentrifugiert oder unzentrifugiert aufbewahrt wurden. Die als Vollblut aufbewahrten Proben lassen eine stärkere Zunahme (bzw. bei Arginin-Abnahme) der Aminosäurewerte als die entsprechenden Seren erkennen.

Bei steigender Temperatur ergeben sich zum Teil deutlicher veränderte Aminosäurewerte.

Bei längerer Aufbewahrungszeit werden Abweichungen der Aminosäurewerte meist deutlicher.

Bei den Aminosäuren der Gruppe 3 finden sich die niedrigsten Konzentrationsänderungen nach 24-stündiger Serumaufbewahrung im Kühlschrank ($+ 4^{\circ}$), die höchsten nach Vollblutaufbewahrung bei Zimmertemperatur ($+ 20^{\circ}$) mit weiterer Veränderung bei längerer Aufbewahrungszeit. Es gibt jedoch auch Werte, die innerhalb der methodischen Fehlergrenze oder unter den Werten der Bezugsprobe liegen.

Abb. 6 zeigt die prozentualen Abweichungen der Aminosäurewerte aus Gruppe 3 von den Bezugsproben bei verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen. (siehe Anhang)

Gruppe 4:

Eine deutlich Abhängigkeit von den drei oben genannten Aufbewahrungsbedingungen zeigen:

Glutaminsäure

Asparaginsäure

Glycin

Cystin

Die Glutaminsäurewerte liegen bei allen Versuchsbedingungen über denen der Bezugsprobe. Die geringste prozentuale Zunahme zeigen die Werte der bei $+ 4^{\circ}$ aufbewahrten Serumproben. Sie liegen über dem Durchschnittswert der methodischen Fehlerbreite. Bei Berücksichtigung der Fehlerbreite für die Glutaminsäure (siehe oben) kann man die bei $+ 4^{\circ}$

aufbewahrten Serumproben noch als im Bereich der methodischen Fehlerbreite liegend ansehen.

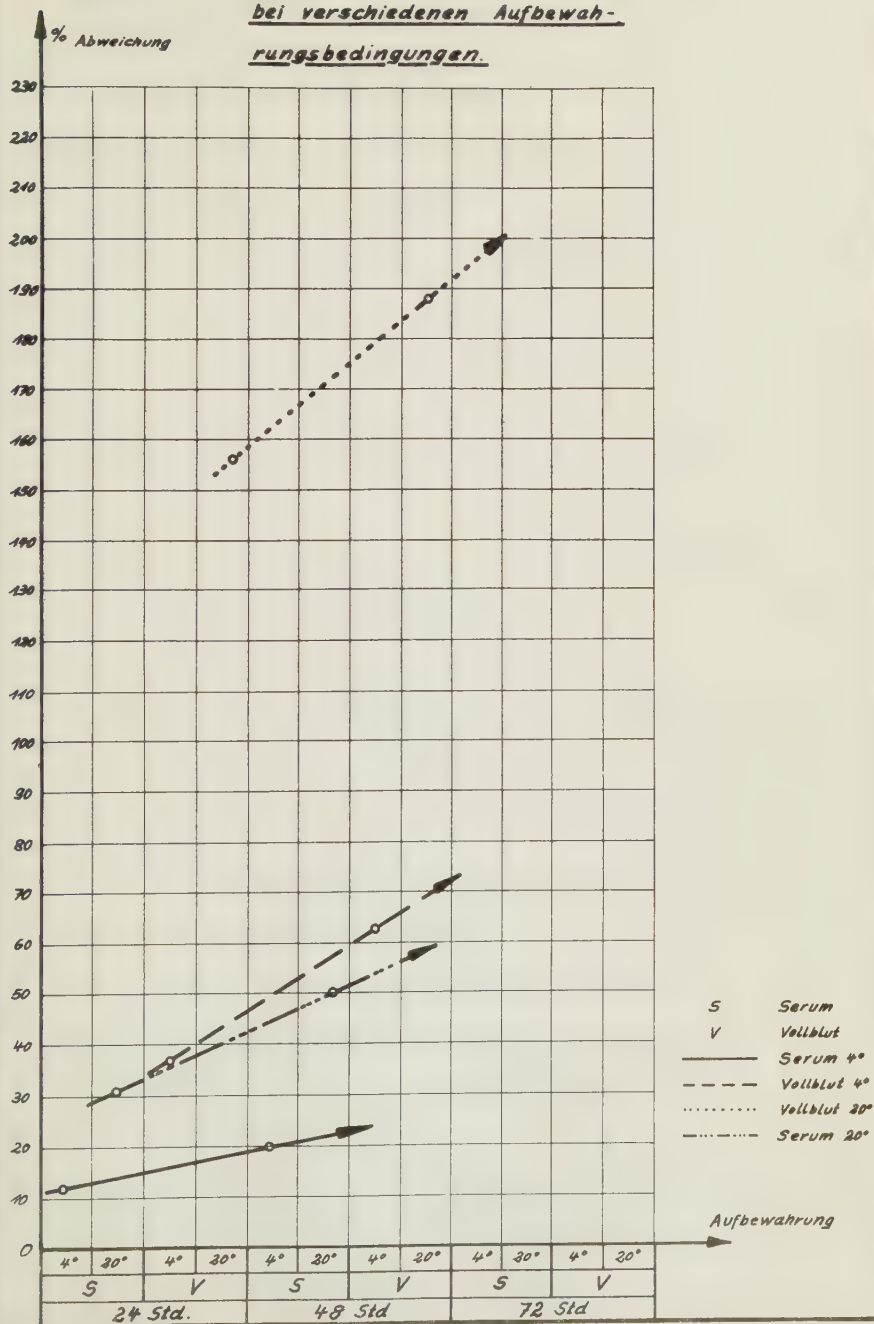
Die Werte der Serumproben, die bei $+ 20^{\circ}$, sowie die der Vollblutproben, die bei $+ 4^{\circ}$ und $+ 20^{\circ}$ über 24 Stunden aufbewahrt wurden, überschreiten schon nach 24-stündiger Aufbewahrung die Fehlergrenze. Sie steigen auch in der Zeiteinheit stärker an als die bei $+ 4^{\circ}$ aufbewahrten Serumproben. Die niedrigsten Glutaminsäurewerte ergeben sich bei 24-stündiger Serumaufbewahrung im Kühlschrank ($+4^{\circ}$), die höchsten Vollblutaufbewahrung bei Zimmertemperatur ($+ 20^{\circ}$).

Abb. 7 demonstriert das Verhalten der Glutaminsäure bei verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen an Werten der Versuchsperson Sch o n. bei anderen Versuchspersonen zeigt sich gleiche Tendenz.
(Zahlenwerte siehe Anhang).

Die Asparaginsäurewerte liegen ebenfalls bei allen Versuchsbedingungen über denen der Bezugsproben. Innerhalb der methodischen Fehlerbreite finden sich nur die Werte der Serumproben nach 24 stündiger Aufbewahrung bei $+ 4^{\circ}$; sie steigen aber nach 48-stündiger Aufbewahrung sprunghaft an und überschreiten die Fehlergrenze. Die bei $+ 4^{\circ}$ aufbewahrten Vollblutproben zeigen schon nach 24-stündiger Aufbewahrung Werte, die über denen der methodischen Fehlergrenze liegen und nehmen nach weiterer 24-stündiger Aufbewahrung ebenfalls sprunghaft zu. Die bei $+ 20^{\circ}$ aufbewahrten Serum- und Vollblutproben lassen nach 24-stündiger Aufbewahrung einen hohen

Abb. 7

Verhalten der Glutaminsäure
bei verschiedenen Aufbewah-
rungsbedingungen.



Anstieg ihrer Werte erkennen, der jedoch im Gegensatz zu den im Kühlschrank aufbewahrten Proben nach 48-stündiger Aufbewahrung nicht weiter zunimmt. Die Serumproben zeigen nach 48 Stunden keinen höheren Anstieg als nach 24 Stunden, die Vollblutproben, deren Werte über denen der Serumproben liegen, zeigen nach 48 Stunden sogar einen geringen Abfall ihrer Konzentration.

Abb. 8 zeigt das Verhalten der Asparaginsäure bei verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen an Werten der Versuchsperson Schö n. Bei anderen Versuchspersonen zeigt sich gleiche Tendenz. (Zahlenwerte siehe Anhang).

Glycin reagiert bei den verschiedenen Aufbewahrungsversuchen ähnlich wie Glutaminsäure.

Nach Vollblutaufbewahrung bei $+ 4^{\circ}$ steigen die Glycinwerte in der Zeiteinheit jedoch stärker an. Im Ganzen liegen die prozentualen Zunahmen des Glycins unter denen der Glutamin- und Asparaginsäure. Die Zunahmen der Serumproben, welche im Kühlschrank bei $+ 4^{\circ}$ aufbewahrt wurden, liegen noch im Bereich der methodischen Fehlerbreite.

Abb. 9 zeigt das Verhalten von Glycin bei verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen an Werten der Versuchsperson Schö n. Bei anderen Versuchspersonen zeigt sich gleiche Tendenz.

Cystin läßt bis auf einen Wert einer Vollblutprobe, die bei $+ 40$ 24 Stunden aufbewahrt wurde und bei

Abb. 8

Verhalten der Asparaginsäure
bei verschiedenen Aufbewah-
rungsbedingungen.

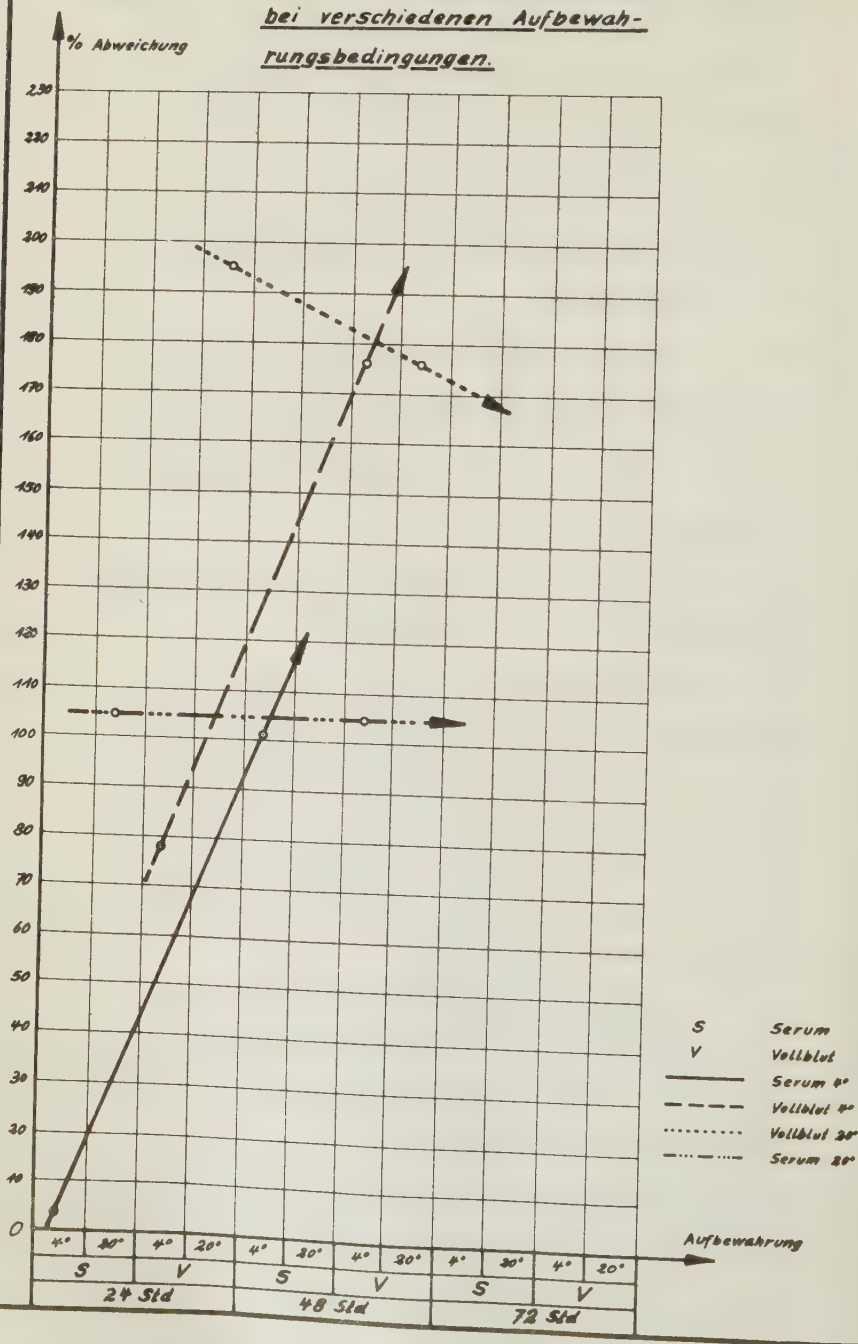
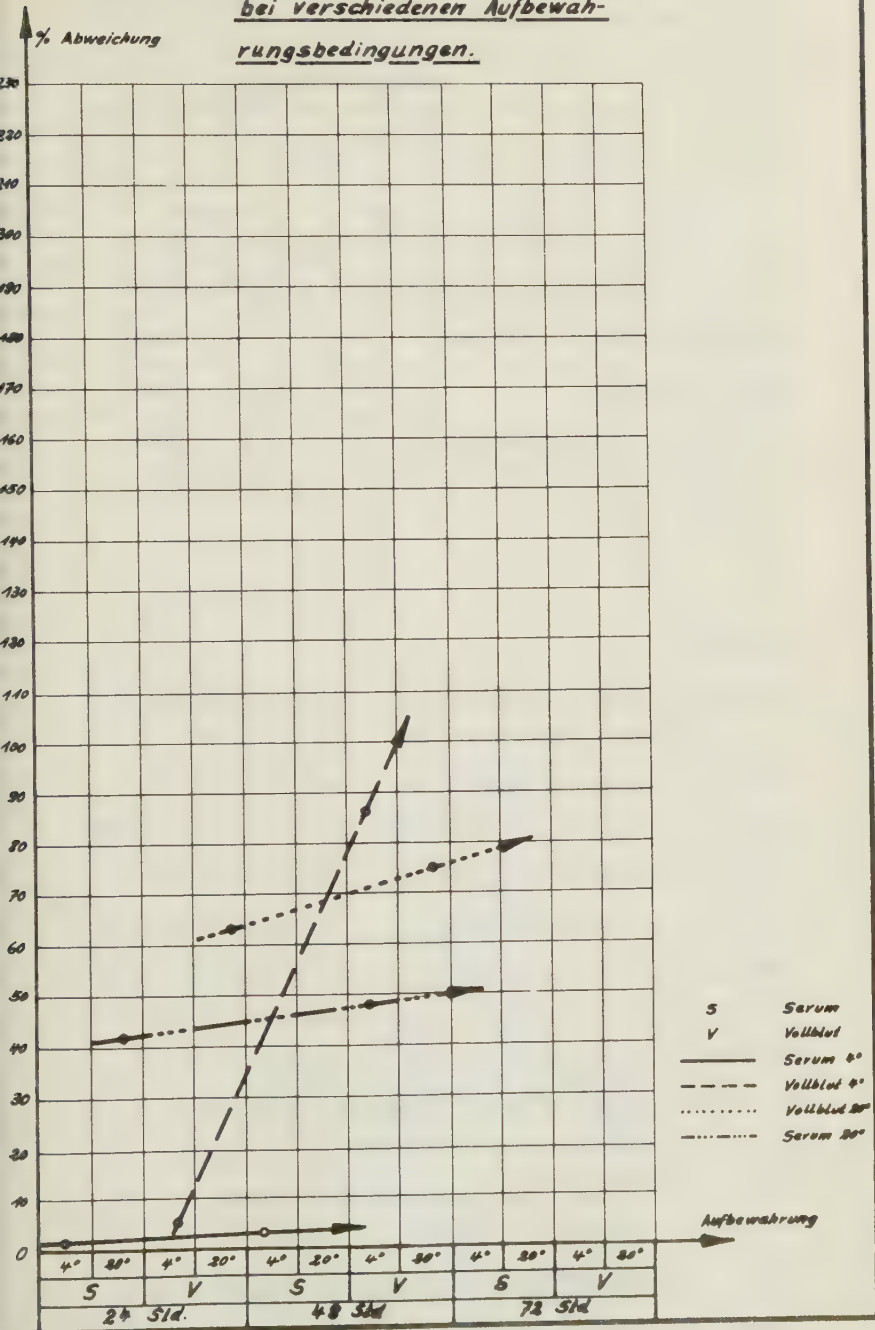


Abb. 9.

Verhalten von Glycin
bei verschiedenen Aufbewah-
rungsbedingungen.



einer hämolytischen Probe nach 72 Stunden prozentuale Konzentrationsabnahmen erkennen. Der Cystin-gehalt nimmt bei allen Versuchsbedingungen im Laufe der Zeit weiterhin ab, außer bei Serumaufbewahrung bei + 20°, wo sich eine relative Zunahme findet.

Abb. 10 zeigt das Verhalten von Cystin bei verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen an Werten der Versuchspersonen N ♂ⁿⁿ und S ♀ⁿ.

Schüttelproben:

4 Stunden intensivem Schütteln bei ca. 10° wurden 3 Vollblutproben der Versuchspersonen: St ♀ⁿ

S₁ ♀ⁿⁿ

S₂ ♀ⁿⁿ

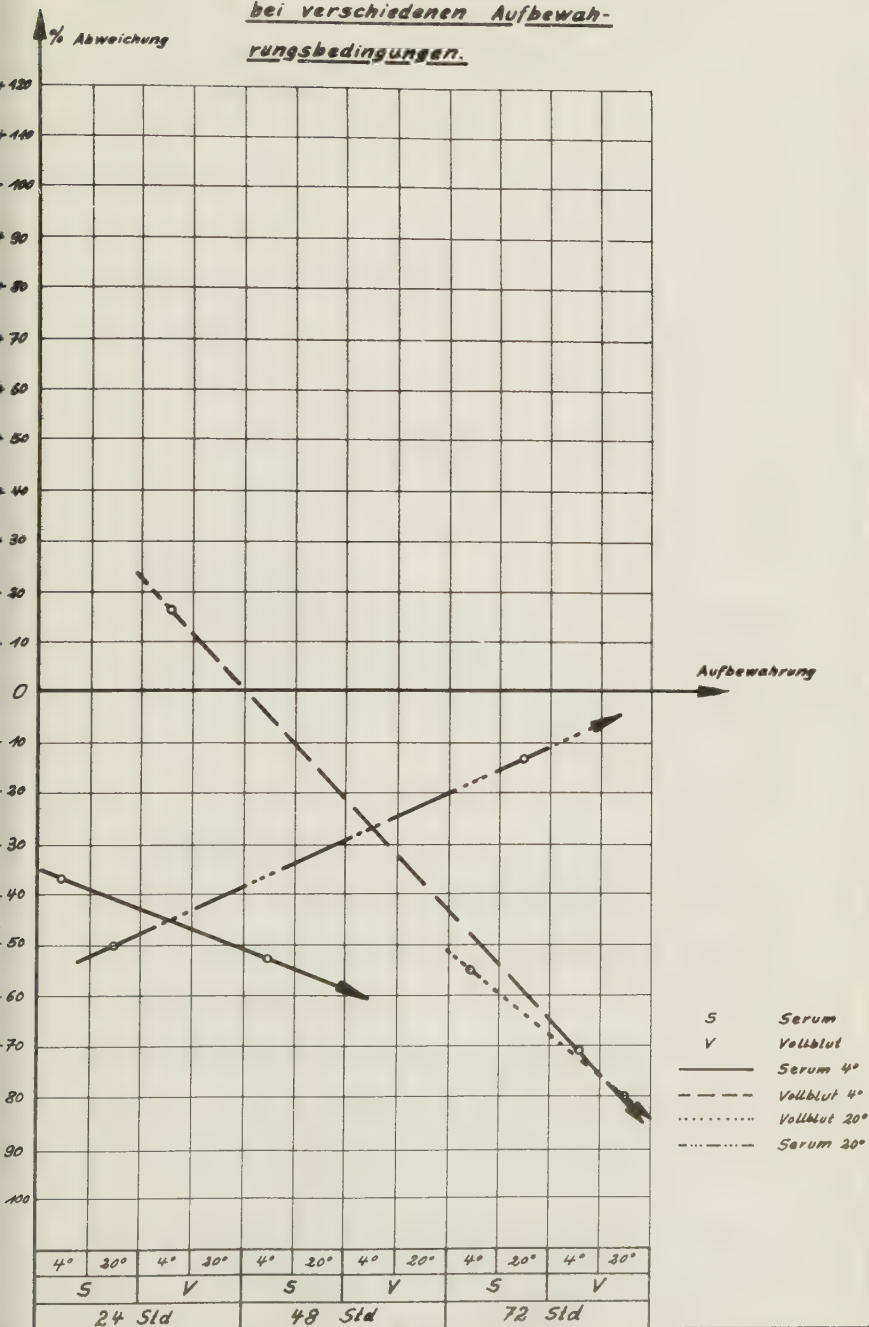
ausgesetzt.

Die Aminosäuren, die ausreichend genau bestimmt werden können, zeigen eine deutliche positive Tendenz, d.h. sie reagieren mit einer prozentualen Zunahme ihrer Konzentrationen, die zum überwiegenden Teil die methodische Fehlerbreite überschreiten.

Die Probe der Versuchsperson S₁ ♀ⁿⁿ wurde stark hämolytisch, verhielt sich aber wie die anderen geschüttelten Proben und zeigt prozentuale Konzentrationszunahmen, mit Ausnahme von Arginin, daß eine prozentuale Abnahme zeigt. Besonders hohe Werte zeigen Glutaminsäure, Asparaginsäure, Ornithin, Cystin, Histidin, Valin und bei einer Probe Citrullin und Taurin. Cystin läßt bei allen drei Proben eine deutliche Konzentrationszunahme erkennen, im Gegensatz zu den Aufbewahrungsproben ohne

Abb. 10

Verhalten von Cystin
bei verschiedenen Aufbewah-
rungsbedingungen.





Schütteln, bei denen sich eine deutliche Abnahme zeigte.

Eine Konzentrationsabnahme zeigen bei der Probe der Versuchsperson S₂ ♀ nn die Werte von:

Taurin

Asparaginsäure

Methionin

bei der Versuchsperson St ♀ n

Cysteinsäure

Harnstoff (innerhalb der meth. Fehlerbreite)

Abb. 11 zeigt die prozentualen Veränderungen der Aminosäurekonzentration dreier vierstündigem Schütteln ausgesetzter Vollblutproben. (siehe Anhang)

Haemolytische Seren:

Bei der Untersuchung sofort nach dem Zentrifugieren leicht haemolytisch gewordener Seren von 3 verschiedenen Proben der Versuchspersonen: Sch ♀ nn

Sch ♀ n

N ♂ nn

zeigen wider Erwarten zwei fast ausschließlich prozentuale Abnahmen ihrer Aminosäurekonzentrationen, die zum überwiegenden Teil die methodische Fehlergrenze überschreiten.

Die Probe der Versuchsperson Sch ♀ nn läßt z.T. auch prozentuale Zunahmen erkennen, die die methodische Fehlerbreite jedoch nur geringfügig überschreiten.

Asparaginsäure zeigt bei den haemolytischen Proben aller Versuchspersonen eine deutliche prozentuale

Zunahme, die Glutaminsäurekonzentration nimmt in einer Probe geringfügig zu, in zwei Proben jedoch ab. Taurin - im Gegensatz zu den übrigen Vollblutproben - und Harnstoff zeigen bei allen drei Proben eine deutliche Abnahme ihrer Konzentrationen.

Abb. 12 zeigt die prozentualen Veränderungen der Aminosäurekonzentrationen dreier sofort nach dem Zentrifugieren haemolytisch gewordener Seren. (siehe Anhang)

Länger aufbewahrte Blute mit deutlicher Haemolyse:

Vier Vollblutproben wurden nach einer Aufbewahrung von 48 und 72 Stunden bei 4° und 20° deutlich haemolytisch. Sie zeigen im Gegensatz zu den sofort nach dem Zentrifugieren leicht haemolytisch gewordenen Seren einen durchweg erhöhten Aminosäuregehalt. Eine besonders deutliche Zunahme ergibt sich außer für Asparaginsäure und Glutaminsäure für Taurin, Glycin, Leucin, Ornithin, Lysin, Histidin und soweit es eine sichere Beurteilung erlaubt auch für Tryptophan. Arginin und Tyrosin lassen abnehmende Konzentrationen erkennen.

II. Nach Hydrolyse wurden 13 Proben, die verschiedenen Versuchsbedingungen ausgesetzt waren, säulenchromatographisch analysiert. Die Blutproben stammten von 2 Versuchspersonen: Sch $\varnothing$ n, S $\varnothing$ nn. Bei gleicher Gruppeneinteilung wie für die nicht hydrolysierten Seren erhalten wir folgende Aufteilung der Aminosäuren:

Gruppe 1: In diese lassen sich keine Aminosäuren einreihen, da sich nach Hydrolyse verschieden aufbewahrter Proben keine Aminosäuren nahezu konstant verhält.

Gruppe 2: Wechselnde Werte ohne einheitliche Tendenz zeigen:

Taurin
und Threonin

Gruppe 3: Wechselnde Werte mit angedeuteter Tendenz finden sich bei folgenden Aminosäuren:

Serin	Isoleucin
Glycin	Leucin
Citrullin	Valin
Tyrosin	Phenylalanin
Prolin	Alanin

Asparaginsäure

Serin, Citrullin, Glycin und Tyrosin reagieren angedeutet mit einer prozentualen Zunahme. Die übrigen Aminosäuren dieser Gruppe reagieren mit einer Abnahme der Konzentrationen.

Die Abnahmen der Serin- Tyrosin und Citrullinkonzentrationen überschreiten die 10 % Grenze nicht.

Die bei den verschiedenen Versuchspersonen feststellbaren individuellen Besonderheiten der Aminosäuren Leucin, Valin und Isoleucin werden unten (III.) beschrieben.

Gruppe 4: Eine deutliche Tendenz im Sinne einer Abnahme ihrer Konzentration zeigt die Glutaminsäure. Nur die bei + 4° aufbewahrte Serumprobe läßt eine Zunahme erkennen, die geringfügig die Fehlergrenze überschreitet.

Abb. 13 zeigt Aminosäuren Konzentrationsveränderungen hydrolysierter Proben unter verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen. (siehe Anhang)

Eine Vollblutprobe der Versuchsperson S q nn wurde 4 Stunden geschüttelt und anschließend hydrolysiert.

Im Gegensatz zu den nicht hydrolysierten Proben zeigt diese nach Hydrolyse eine prozentuale Abnahme der Aminosäurekonzentrationen, die z.T. die Fehlergrenze überschreitet.

Ausnahmen bilden Taurin, Cystin und Methionin, die einen Anstieg über die methodische Fehlerbreite hinaus erkennen lassen. (siehe oben Abb. 11)

Eine sofort nach dem Zentrifugieren haemolytisch gewordene Probe wurde nach Hydrolyse analysiert. (Versuchsperson Sch q n). Es zeigt sich wie bei den nicht hydrolysierten haemolytischen Seren eine prozentuale Abnahme der Aminosäurekonzentration.

Ausnahmen: Threonin

Serin

Glycin

Tyrosin

Nur der Anstieg der Tyrosinwerte überschreitet die methodische Fehlerbreite. (siehe oben Abb. 12)

Länger aufbewahrte Blute mit deutlicher Haemolyse zeigen nach Hydrolyse ähnliche Verhältnisse wie die nicht haemolytischen.

II. Individuelle Besonderheiten

Die einzelnen Aminosäuren verhalten sich bei verschiedenen Versuchsbedingungen in unterschiedlicher Weise. Die Reaktion der Aminosäuren unterschiedlich vorbehandelter Seren ist aber nicht bei allen Versuchspersonen gleich. Einzelne Aminosäuren nehmen vielmehr im Bezug auf ihre Stabilität eine für einige Versuchspersonen charakteristische Sonderstellung ein.

In der Gruppe der nicht hydrolysierten Seren fallen die Proben der Versuchsperson Sch q n durch ihre ausschließlich prozentuale Abnahme der Aminosäurekonzentration bei Phenylalanin, Tyrosin und Citrullin auf, während die Proben der anderen Versuchspersonen, die gleichen Bedingungen ausgesetzt waren, mit wenigen Ausnahmen eine prozentuale Zunahme zeigen. (siehe oben Abb. 5) In der Gruppe 3 der nicht hydrolysierten Seren findet sich bei der Versuchsperson N o¹ nn bei wiederholter Bestimmung ausschließlich eine prozentuale Zunahme der

Argininkonzentration, während (mit 2 Ausnahmen über die Fehlergrenze) die Proben aller anderen Versuchspersonen eine prozentuale Abnahme der Argininkonzentration zeigen. (siehe oben Abb. 6) Bei den Aminosäuren der Gruppe 4 fällt auf, daß bei den Proben verschiedener Versuchspersonen zwar gleiche Tendenz, aber unterschiedlich starke Veränderungen in der Zeiteinheit vorliegen.

Abb. 14 zeigt Tendenz und Stärke der Konzentrationsveränderungen von Glutaminsäure, Asparaginsäure und Glycin bei Serumproben der Versuchsperson Sch q n und N oⁿⁿ aufbewahrt bei 4° und 20° über 24 Stunden.

Bei den hydrolysierten Seren finden wir bei Leucin, Isoleucin und Valin ausschließlich eine prozentuale Abnahme bei den Proben der Versuchsperson Sch q n; ausschließlich eine prozentuale Zunahme bei den Proben der Versuchsperson S q nn. Das gleiche zeigt sich bei den Aminosäuren Alanin, Asparaginsäure, Phenylalanin und Taurin. (Ausnahmen: bei den letzteren je eine Probe mit prozentualer Zunahme bei der Versuchsperson Sch q n. siehe oben Abb. 13)

E Diskussion

Die Ionenaustauschchromatographie mit automatischer Registrierung der Ergebnisse ist zur Zeit die genaueste Methode zur quantitativen Aminosäurebestimmung. Die weitgehende Automatisierung konnte jedoch nicht alle für die Auswertung der Ergebnisse wichtigen Fehlerquellen ausschalten.

Abb. 14

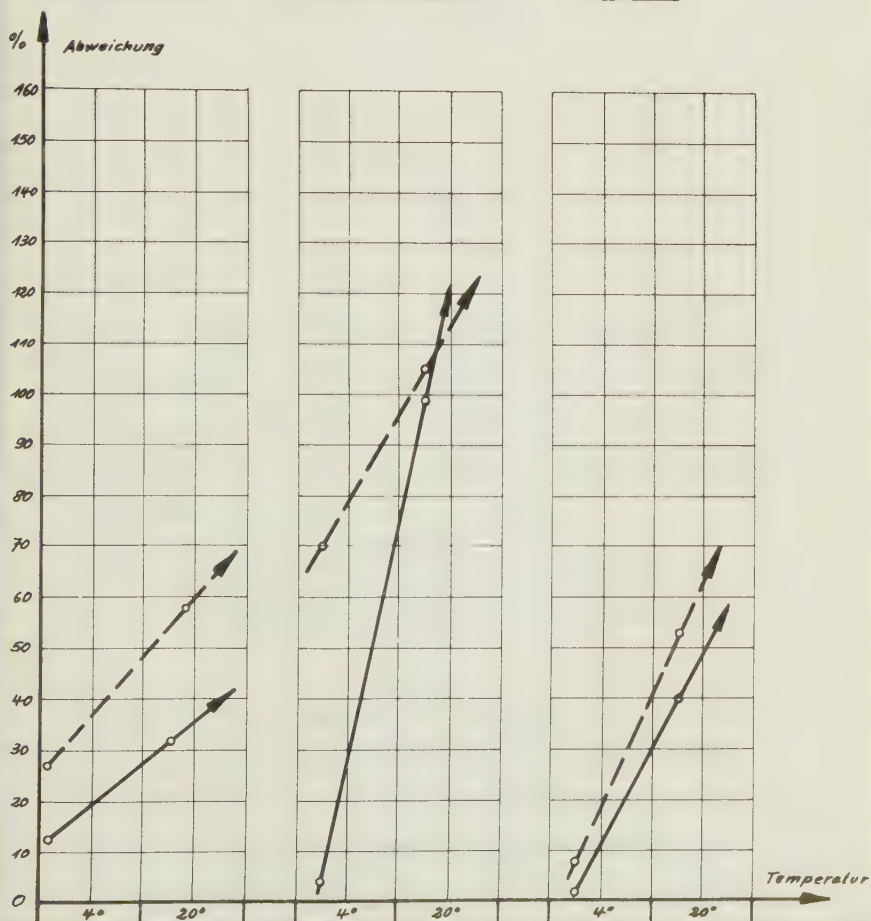
Konzentrationsveränderungen bei Serumproben von 4° und 20° in 24 Stunden

Versuchspersonen: Sch ♀ n ———
N ♂ nn - - - -
n nüchtern
nn nicht nüchtern

Glutaminsäure

Asparaginsäure

Glycin





Von Mängeln der Apparatur abgesehen, ergeben sich Fehlermöglichkeiten z.B.

bei der Aufbereitung,
durch Pufferschwankungen und
beim Planimetrieren.

Der Planimeterfehler beträgt $\pm 0,1 \text{ mm}^2$. Er führt vor allem bei Aminosäuren mit niedrigen (z.B. Asparaginsäure) und breiten (z.B. Arginin) Gipfeln zu Ungenauigkeiten. Deutlich wirkt er sich auf Aminosäuren mit einem hohen Molekulargewicht (z.B. Cystin) aus, wenn die Werte in Gewichtseinheiten angegeben werden.

Ferner ist zu berücksichtigen, daß es individuelle Schwankungen der Aminosäurespektren zwischen gesunden nüchternen Personen gibt. 33, 10, 5 Bei den vorliegenden Untersuchungen sind die Differenzen zwischen den Ausgangswerten, d.h. den einzelnen unter normalen Bedingungen analysierten Proben = Bezugsproben hoch. Sie können ernährungs-, krankheits- oder medikamentös bedingt sein. Diese Abhängigkeit im einzelnen zu klären, überschreitet den Rahmen dieser Arbeit.

Tabelle 3 gibt genaue Diagnose, Therapie und klinische Befunde der Versuchspersonen wieder.

Auf Grund der individuellen Schwankungsbreite und der bei dem verwendeten Material besonders großen Differenzen der einzelnen Bezugsproben, wurde das bei einer Entnahme gewonnene Blut jeder Versuchsperson gesondert betrachtet, und die Veränderungen

als prozentuale Zu- oder Abnahme von der Bezugsprobe angegeben.

Es kann eingewendet werden, daß die Veränderungen bei den Versuchsbedingungen durch methodische Fehlerquellen bedingt sind. Demgegenüber steht z.B., das Cystin bei allen Aufbewahrungsbedingungen eine deutliche prozentuale Abnahme, bei allen 4 Std. geschüttelten Proben jedoch eine deutliche Zunahme der Konzentration zeigt.

Die bei den verschiedenen Versuchspersonen feststellbaren Besonderheiten einzelner Aminosäuren können auch aus dem Grunde nicht methodisch bedingt sein, daß andere Aminosäuren ein entgegengesetztes Verhalten aufweisen, und daß sich dieselben individuellen Besonderheiten bei wiederholter Blutabnahme erneut zeigen.

STEIN und MOORE ³³ stellten bei Untersuchungen an über 7 Monate bei -20° eingefrorener unentweißten Plasma eine Zunahme von Asparaginsäure, eine stärkere Zunahme von Glutaminsäure und eine Abnahme bis zum Verschwinden von Cystin fest. Sie erklärten die Zunahme von Asparaginsäure und Glutaminsäure durch Umwandlung aus den entsprechenden Amiden Asparagin und Glutamin, die Abwesenheit von Cystin durch Cystein - Proteinverbindungen.

Um Cystin in eingefrorenen Proben zu bestimmen, betonten sie die Notwendigkeit, das Plasma vor dem Einfrieren zu enteiweißen.

Diese Bedingungen wurden nicht nochmals geprüft und die Serumproben nach verschiedener Vorbehandlung,

Patient	Diagnose	Hb, Blutbild BSG	Papier-elektrophorese			Therapie	
			Gesamt= eiweiß	Albu= munie	Globuline	seit Monaten	vor dem Aderlaß
1. ♂ 66 J. nn	Polyglobulie, Lungenemphy- sem, Cor pul- monale, Leber- Mil-u-Nieren= stauung, Ar- teriosklerose Lungenödem	Hb 90% Erythro 8,17 Mill. Leuko 8200 Thrombo normal BSG 0/2 mm	6,7	54	4,5 8 14	19,5	Scillaren Diamox Cratac- Euphyllin- gutt Strophosid Persantin Efrodal Esidrix Supra- cillin
2. ♀ 72 J. (a = n, b = nn)	Polycythaemia vera, Uterus myomatosis, Struma nodosa Adipositas	Hb 130% Erythro 6,7 Mill. Leuko 9400 Thrombo normal BSG 1/1 mm	9,2	53	5,5 9 13,5 19		a: Lanicor b: Stro- phosid
3. ♂ 61 J. (a = nn b = nn)	Polyglobulie, dekompensiert Cor pulmonale Emphysebron- chitis, Lungen= Thrombo normal Tbc., Osteomye- litis tbc.	Hb 135% Erythro 5,5 Mill. Leuko normal Thrombo normal BSG 1/2 mm	6,8	50,5	7,5 9,5 13	19,5	Euphyllin- Celadigal Strophosid Lanicor Supracillin Efrodal Priatan Diamox
4. ♀ 41 J. n	Polycythaemia vera mit Le- ber-u-Milz= vergrößerung	Hb 110% Erythro 8,74 Mill. Leuko 10300 Thrombo 35000 BSG 0/0 mm	7,1	51	5,5 7,5 14	22	vor 4 Monaten 6,5 mg p32
5. ♀ 60 J. a = nn b = nn	Polycythaemia vera	Hb 140% Erythro 7,68 Mill. Leuko 9000 Thrombo 314 000 BSG 1/1 mm	8,0	52	5 8 12,5 23,5	----	----
c = n		Hb 95% Erythro 5,15 Mill. Leuko 5700					
Normwerte der Papier- elektrophorese			7,5- 8,5	55- 63	2,5- 5,0	5- 8,5	8- 12 relativ-% 20



Aufbewahrung und Aufbereitung immer enteiweißt eingefroren. Glutaminsäure, Asparaginsäure und Cystin zeigen bei vorliegenden Versuchen gleichsinnig die von STEIN und MOORE gefundenen Veränderungen. Das deutet darauf hin, daß bei den beschriebenen Aufbewahrungsbedingungen ähnliche Prozesse abgelaufen sind.

Bei Untersuchungen der Aminosäurekonzentration an Vollblut fanden STEIN und MOORE 1954 ³³ bei Haemolyse eine aus den zellulären Bestandteilen stammende Zunahme der Aminosäurewerte von: Taurin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glycin und Ornithin und eine Abnahme von Valin und Cystin.

Bei den vorliegenden Untersuchungen dreier sofort nach dem Zentrifugieren haemolytisch gewordener Seren wurde vorwiegend eine Abnahme der Aminosäurekonzentrationen gefunden, außer bei Asparaginsäure, die bei allen Seren eine Zunahme über die Fehlergrenze hinaus zeigt.

Bei länger aufbewahrten Bluten mit deutlicher Haemolyse nimmt die Konzentration von Glutaminsäure, Taurin, Glycin, Leucin, Ornithin, Lysin und Histidin deutlich zu, von Arginin und Tyrosin jedoch ab, Bei einer durch Schütteln stark haemolytisch gewordenen Probe fanden sich deutliche Konzentrationszunahmen der Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glycin, Ornithin, und, im Gegensatz zu den Untersuchungen von STEIN und MOORE und zu den von uns bei anderen Versuchsbedingungen erhobenen Befunden, auch eine Zunahme von Cystin. Die Veränderungen von Valin liegen innerhalb der methodischen Fehlerbreite;

Taurin wurde nicht bestimmt.

Im Ganzen läßt der nicht einheitliche Grad der Haemolyse keine sichere Beurteilung zu.

Die starken Veränderungen bei Vollblutaufbewahrung und die der geschüttelten Proben geben Hinweis dafür, daß auch ohne sichtbare äußere Zeichen wie z.B. Haemolyse, der Stoffwechsel der zellulären Bestandteile bei länger als 4 Std.²⁸ dauernder Aufbewahrung einen Einfluß auf die Serumzusammensetzung hat. Für alle Stoffwechselvorgänge im Organismus ist eine Temperatur von $+ 37^{\circ}$ optimal. Dadurch ist die Verstärkung der Veränderungen bei einer Temperatursteigerung von $+ 4^{\circ}$ und auf $+ 20^{\circ}$ zu erklären.

Die stärkeren Veränderungen mit längerer Aufbewahrungszeit entsprechen den Erwartungen. Sicher sind die Reaktionen, die zu den Veränderungen des Aminosäuregehaltes bei den einzelnen Aufbewahrungsbedingungen führen, begrenzt, wie es beispielsweise das Verhalten der Asparaginsäure (Abb.8) andeutet. Bei den anderen Aminosäuren ist auf Grund der auf höchstens 72 Stunden befristeten Aufbewahrungszeit dieses Verhalten nicht ersichtlich.

Arbeiten, die die Haltbarkeit der einzelnen Aminosäuren im Serum oder Plasma betreffen, konnten nicht ausfindig gemacht werden.

Über Untersuchungen der Haltbarkeit von Gesamteiweiß im Plasma berichten STRUMIA³⁴ und Mitarbeiter. Sie stellen fest, daß getrocknete und bei -20° eingefrorene Plasmakonserven noch nach 7-10 Jahren keine

Eiweißveränderungen zeigen und zur Transfusion vollwertig sind.

LANG, FEINEN und CREMER¹² untersuchten Serumproben, die 5-6 Jahre lang ohne Konservierungsmittel steril bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden. Elektrophoretische Untersuchungen ergaben einen normalen Befund. Der Gehalt der einzelnen Eiweißfraktionen entsprach demjenigen von frischen Seren gesunder Menschen. Die Autoren stellten fest, daß flüssige Serumkonserven auch nach mehrjähriger Lagerung vollwertige Blutersatzmittel sind.

Es ist anzunehmen, daß eine Aufbewahrung von Blut bzw. Serum in sterilen Gefäßen auch die von uns beobachteten Veränderungen des Gehaltes an Aminosäuren in engeren Grenzen halten würde. Es empfiehlt sich darum für eine unvermeidbare Aufbewahrung von Blut oder Serum, in dem Aminosäuren bestimmt werden sollen, die Verwendung von sterilen Gefäßen.

Für den Transfusionsbedarf³ wird eine Lagerung der Blutkonserven bei einer Temperatur von $+ 2^{\circ}$ bis $+ 6^{\circ}$ empfohlen, um einerseits ein Platzen der Membranen der zellulären Bestandteile unter 0° und andererseits eine Erhöhung des Stoffwechsels bei höheren Temperaturen zu vermeiden. Außerdem sollen die Konserven nur in nicht vibrierenden Kühlschränken gelagert werden und Serum soll innerhalb der ersten 72 Stunden nach Entnahme eingefroren werden. Dieses sind die gleichen Forderungen, die auf Grund der oben beschriebenen Untersuchungen gestellt werden müssen, um Proben, in denen freie

und gebundene Aminosäuren bestimmt werden sollen, wenn unvermeidlich, vor dem Enteiweißen aufzubewahren.

Nach früheren Untersuchungen ²⁸ kann man Vollblut und Serumproben, in denen Aminosäuren untersucht werden sollen, vor dem Enteiweißen 4 Stunden ohne Änderung der Aminosäurekonzentration im Kühlschrank bei + 4° aufbewahren.

Nach den hier vorgelegten Befunden führt aber bereits eine 24-stündige Aufbewahrung im Kühlschrank bei + 4° bei allen Vollblutproben aller Versuchspersonen zu einer Änderung der Aminosäurekonzentration.

Bei den Serumproben zeigen sich ebenfalls nach 24-stündiger Aufbewahrung bei + 4° Konzentrationsänderungen mit Ausnahme der Aminosäure Glycin, Alanin und Leucin, deren Abweichungen $\pm 10\%$ nicht überschreiten. Alanin und Leucin finden sich auch nach 48 stündiger Aufbewahrung bei + 4° noch unverändert. Falls Krankheitsbilder untersucht werden sollen, bei denen ausschließlich diese Aminosäuren interessieren, wäre es nach vorliegenden Untersuchungen durchaus möglich, die Proben als Serum bei + 4° 24 Stunden vor dem Enteiweißen aufzubewahren.

Einige Aminosäuren sind nach 24-stündiger Serumaufbewahrung bei + 20° unverändert, Taurin und Lysin sogar nach einer 48-stündigen Aufbewahrung bei + 20°. Da sich jedoch bei Aufbewahrung in gleicher Zeitspanne bei + 4° Veränderungen zeigen, ist eine Untersuchung nach länger als 4-stündiger Aufbe-

wahrung nicht zu empfehlen.

Eine Probe wurde nach dem Enteiweißen 72 Std. bei 20° aufbewahrt (siehe Anhang, 4. Aderlaß). Es zeigten sich durchgehend leichte Zunahmen der Aminosäurekonzentrationen, die jedoch geringer sind als die von unenteiweißt aufbewahrten Proben. Die stärksten Veränderungen zeigen Alanin, Valin, Leucin, Histidin. Eine prozentuale Abnahme zeigt nur Cystin. Abschließend muß man die eingangs gestellten Fragen folgendermaßen beantworten:

1. Eine Blutprobe kann nicht 1,2 oder 3 Tage lang aufbewahrt werden, ohne daß eine Änderung der Aminosäurekonzentration erfolgt. Besonders ungünstig wirkt sich eine Aufbewahrung von Proben aus, bei denen die zellulären Bestandteile nicht abgetrennt wurden.
2. Steigende Temperaturen bedingen stärkere Aminosäurekonzentrationsveränderungen.
3. 4-stündiges Schütteln-entsprechend einer ebenso langen Autofahrt-führt durchwegs zu einer Zunahme der Aminosäurekonzentrationen.
4. Eine Untersuchung einer Probe nach Postversand wäre nicht sinnvoll. Die Zeitdauer, die ungünstigen Temperaturbedingungen und das unvermeidliche Werfen und Schütteln der Probe würde zu veränderten Aminosäurekonzentrationen führen.

F. Z u s a m m e n f a s s u n g :

1. Vollblut- und Serumproben können vor dem Enteiweißen ohne Änderung der Aminosäurekonzentration 4 Stunden bei einer Temperatur von + 4° aufbewahrt

werden. Eine 24-stündige Aufbewahrung führt bei den einzelnen Aminosäuren bereits zu einer Änderung ihrer Konzentrationen.

2. Nicht alle Aminosäuren reagieren in gleicher Weise. Sie zeigen Konzentrationszu- und -abnahmen von wechselnder Stärke.
 3. Die Veränderungen sind abhängig von folgenden Faktoren:
 - a) Aufbewahrungsmaterial
 - b) Aufbewahrungstemperatur
 - c) Aufbewahrungszeit
 4. Bei der Aufbewahrung zeigen sich bei den Aminosäurekonzentrationsänderungen von den Versuchspersonen abhängige Unterschiede.
 5. Eine 4 Stunden geschüttelte Vollblutprobe zeigt deutliche Aminosäurekonzentrationszunahmen.
 6. Haemolytische Blute sind für die quantitative Aminosäurenanalyse nicht geeignet.
 7. Eine unvermeidbare Aufbewahrung von Blut, in dem freie und gebundene Aminosäuren quantitativ untersucht werden sollen, ist möglichst enteiweißt, in sterilen Gefäßen, als Serum bei einer Temperatur von $+4^{\circ}$ für einige Stunden, bei -15° über einen längeren Zeitraum zu empfehlen.
- Ein notwendiger Transport ist schüttel- und stoßgesichert vorzunehmen.

Anhang:

- I. Werte aller Versuchspersonen und -bedingungen nach Aderlassen geordnet jeweils in μ Mol (obere Zahl) und μ g (untere Zahl) pro 1 ml Serum und die prozentualen Abweichungen von den Bezugsproben.
- II. Aminosäurewerte in μ g der sofort bearbeiteten Portionen von 9 Aderlaßbluten.
- III. a) 6-fach Analyse zur Bestimmung des mittleren Fehlers.
b) Methodische Fehlerbreite
- IV. Graphische Darstellung der Aminosäureveränderungen.

Sch = Schüttelprobe

n = nüchtern

nn = nicht nüchtern

1. Aderlaß, J.R. ♂ 66 J. nn

Material		Serum		Vollblut	
Zeit	Bezugs=	48 Std.			
Temperatur	probe	+ 20°			
Wert		Abs.Wert	% Abweich.	Abs.Wert	% Abweich.
Cystin=	0,051				
säure	8,62	-	-	-	-
Taurin	0,125	0,123		0,193	
	15,61	15,34	-1,7	24,14	+54,6
Harnstoff	6,97	6,60		7,33	
	418,89	396,19	-5,4	439,95	+5,0
Asparagin=	0,025	0,031		0,041	
säure	3,37	4,15	+23,1	5,41	+60,5
Threonin	-	-	-	-	-
Serin	-	-	-	-	-
Glutamin=	0,105	0,159		0,278	
säure	15,44	23,44	+51,8	40,88	+164,8
Citrullin	0,018	0,017		0,22	
	3,12	2,99	-4,2	3,92	+25,6
Prolin	0,239	0,240		0,257	
	17,52	27,60	+0,3	29,60	+7,6
Glycin	0,312	0,609		0,500	
	23,45	32,57	+38,9	37,55	+60,1
Alanin	0,469	0,609		0,619	
	41,82	54,25	+29,7	55,11	+31,8
Cystin	-	-	-	-	-
α-Amino=	-	-	-	-	-
buttersäure	-	-	-	-	-
Valin	0,204	0,233		0,213	
	23,86	27,34	+14,6	24,91	+4,4
Methionin	-	0,003		-	
	-	0,52	-	-	-
Isoleucin	0,089	0,088		0,083	
	11,70	11,60	-0,9	10,85	-7,3
Leucin	0,119	0,144		0,127	
	15,62	18,89	+20,9	16,72	+7,0
Tyrosin	0,097	0,108		0,099	
	17,59	19,64	+11,7	17,88	+1,6
Phenyl=	0,093	0,135		0,102	
alanin	15,39	22,34	+45,2	16,77	+9,0
Ornithin	0,112	0,155		0,168	
	14,80	20,44	+38,1	22,18	+49,9
Lysin	0,247	0,254		0,268	
	26,13	37,09	+2,7	39,24	+8,6
Histidin	0,082	0,094		0,080	
	12,77	14,63	+14,6	12,44	-2,6
Tryptophan	0,017	0,026		0,022	
	3,45	5,34	+54,8	5,49	+33,0
Arginin	0,030	0,017		0,010	
	5,20	3,01	-42,1	1,78	-65,8

2. Aderlaß, P.Sch. ♀ 72 J. nn

Material	Serum						V o l l b l u t						Vergleich zur
Zeit	24 Std.			72 Std.			24 Std.						Bezugsprobe
Temperatur	20°			4°			4°			20°			leicht hämolyt.
Wert	abs.W. % Abw.			abs.W. % Abw.			abs.W. % Abw.			abs.W. % Abw.			abs.W. % Abw.
Cystein=säure	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Taurin	0,169	0,175		0,152		0,189	0,136		0,115				
	21,16	21,94	3,7	18,97	-10,3	23,61	11,6	16,99	-19,7	14,38	-32,0		
Harnstoff	3,681	3,055		3,200		3,213	3,74		3,088				
	221,05	183,48	-17,0	192,21	-13,0	192,98	-12,7	224,72	1,7	185,48	-16,1		
Asparagin=säure	0,021	0,025		0,024		0,021	0,039		0,025				
	2,76	3,37	22,1	3,22	16,7	2,83	2,5	5,23	81,5	3,34	21,0		
Threonin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glutamin=säure	0,092	0,126		0,125		0,130	0,210		0,111				
	13,53	18,61	37,5	18,43	36,2	19,11	41,2	30,84	125,9	16,28	20,3		
Citrullin	0,008	0,011		0,011		0,009	0,010		0,009				
	1,32	1,99	50,8	1,90	43,9	1,59	20,5	1,80	36,4	1,60	21,2		
Prolin	0,224	0,224		0,214		0,253	0,236		0,230				
	25,82	25,82	0,0	24,68	-4,4	29,09	12,7	27,12	5,0	16,48	2,6		
Glycin	0,129	0,168		0,156		0,155	0,204		0,149				
	9,67	12,61	30,4	11,74	21,4	11,61	20,1	15,33	58,5	11,16	15,4		
Alanin	0,506	0,577		0,483		0,593	0,585		0,579				
	45,09	51,41	14,0	43,07	-4,5	52,79	17,1	52,11	15,6	51,59	14,4		
Cystin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
↙-Amino=buttersäure	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Valin	0,210	0,224		0,193		0,252	0,241		0,217				
	24,56	26,25	6,9	22,66	-7,7	29,57	20,4	28,26	15,1	25,38	3,3		
Methionin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isoleucin	0,071	0,083		0,074		0,091	0,089		0,074				
	9,29	10,89	17,2	9,64	3,8	12,06	29,2	11,02	18,6	9,65	3,9		
Leucin	0,116	0,134		0,116		0,133	0,141		0,121				
	15,16	17,51	15,5	13,97	-7,8	17,44	15,0	18,50	22,0	15,90	4,9		
Tyrosin	0,051	0,058		0,053		0,053	0,057		0,053				
	9,32	10,44	12,0	9,62	3,2	9,57	-2,7	10,31	10,6	9,48	1,7		
Phenylalanin	0,047	0,053		0,060		0,050	0,056		0,048				
	7,75	8,77	13,2	9,98	28,8	8,31	7,2	9,33	20,4	7,96	2,7		
Ornithin	0,110	0,118		0,118		0,141	0,158		0,116				
	14,60	15,59	6,8	15,65	7,2	18,65	27,7	20,93	43,4	15,28	4,7		
Lysin	0,167	0,178		0,166		0,194	0,215		0,179				
	24,37	26,07	7,0	24,25	-0,5	28,42	16,6	31,48	29,2	26,17	7,4		
Histidin	0,043	0,044		0,043	0,051		0,061		0,048				
	6,66	6,82	2,4	6,69	0,5	7,89	18,5	9,44	41,7	7,44	11,7		
Tryptophan	-	-	-	-	-	0,003	0,005		-	-	-	-	-
						0,66	1,05						
Arginin	0,043	0,042		0,041		0,027	0,030		0,039				
	7,31	7,40	-0,1	7,08	-4,5	4,73	-46,2	5,21	-29,7	6,73	-9,2		

Bezugs=	Serum						Vollblut						Vergleich zur Be- zugsprobe leicht haemolytisch					
	24 Std.			48 Std.			24 Std.			48 Std.								
	4°		20°	4°		20°	4°		20°	4°		20°						
	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.				
-	-	-	-	-	-	-	0,003	-	0,008	-	0,008	-	0,005	-	0,008	-	0,010	-
0,132	0,120	-	0,139	-	0,111	-	0,58	-	1,31	-	1,34	-	0,88	-	1,31	-	1,75	-
16,56	14,99	-9,5	16,41	+5,1	13,95	-15,8	0,132	-	0,157	-	0,177	-	0,166	-	0,154	-	0,155	-
2,641	2,66	-	2,768	-	2,580	-	16,35	-1,3	19,65	+18,7	22,20	+34,1	20,74	+25,2	19,29	+16,5	19,41	-11,3
158,64	157,65	-0,6	166,26	+4,8	154,95	-2,3	2,508	-	1,949	-	1,997	-	2,338	-	2,241	-	2,403	-
0,015	0,016	-	0,031	-	0,031	-	149,59	-5,7	117,04	-26,2	119,97	-14,4	140,45	-11,5	134,60	-15,2	144,35	-31,1
2,04	2,13	+4,4	4,19	+105,4	4,09	+100,5	0,313	-	0,027	-	0,045	-	0,042	-	0,042	-	0,024	-
-	-	-	-	-	-	-	4,14	+102,9	3,62	+77,5	6,03	+195,6	5,63	+176,0	5,63	+176,0	3,22	+19,3
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,096	0,110	-	0,126	-	0,115	-	0,145	-	0,132	-	0,245	-	0,157	-	0,276	-	0,117	-
14,12	15,89	+12,5	18,51	+31,1	16,94	+20,0	21,18	+50,0	19,41	+37,5	36,04	+155,2	23,10	+63,6	40,66	+188,0	17,25	-7,6
0,021	0,018	-	0,015	-	0,019	-	0,017	-	0,020	-	0,013	-	0,010	-	0,018	-	0,010	-
3,68	3,07	-16,6	2,64	-28,3	3,31	-10,1	2,99	-18,7	3,53	-4,1	2,20	-40,2	1,76	-52,2	3,09	-16,0	1,76	-63,9
0,254	0,204	-	0,198	-	0,145	-	0,210	-	0,256	-	0,274	-	0,293	-	0,238	-	0,341	-
29,20	23,18	-28,6	22,78	-22,0	16,68	-42,9	23,96	-17,9	29,48	+1,0	31,58	+8,2	33,69	+15,4	27,37	-6,3	39,30	+1,9
0,135	0,139	-	0,190	-	0,138	-	0,197	-	0,141	-	0,220	-	0,251	-	0,234	-	0,138	-
10,11	10,26	+1,5	14,28	+41,2	10,39	+2,8	14,69	+45,3	10,60	+4,8	16,41	+63,1	18,84	+86,4	17,67	+74,8	10,36	-22,5
0,505	0,503	-	0,536	-	0,469	-	0,556	-	0,406	-	0,507	-	0,456	-	0,486	-	0,493	-
45,01	44,23	-1,7	47,74	+6,1	41,79	-7,2	49,21	+9,3	36,14	-19,7	45,18	+0,4	40,66	-9,7	43,32	-3,8	43,94	-26,1
-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,100	-	0,081	-	0,069	-	0,069	-	0,117	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	24,08	-	19,57	-	16,56	-	16,56	-	28,09	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,008	-	0,014	-	0,008	-	0,008	-	0,004	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,85	-	1,42	-	0,85	-	0,85	-	0,38	-
0,236	0,253	-	0,255	-	0,213	-	0,261	-	0,189	-	0,230	-	0,197	-	0,219	-	0,208	-
27,61	29,18	+5,7	29,85	+8,1	24,93	-9,7	30,32	+9,8	22,11	-19,9	26,92	-2,5	23,07	-16,4	25,63	-7,2	24,35	-33,3
0,008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,061	0,057	-	0,055	-	0,047	-	0,062	-	0,052	-	0,071	-	0,052	-	0,058	-	0,958	-
7,98	7,39	-7,4	7,26	-9,0	6,21	-22,2	8,09	+1,4	6,83	-14,4	9,35	+17,2	6,83	-14,4	4,81	-39,7	7,67	-27,2
0,010	0,102	-	0,112	-	0,090	-	0,105	-	0,196	-	0,111	-	0,010	-	0,124	-	0,112	-
13,08	13,18	+0,8	14,74	+12,7	11,77	-10,0	13,71	+4,8	12,41	-5,1	14,54	+14,2	13,12	+0,3	16,31	+24,7	14,65	-15,3
0,065	0,040	-	0,060	-	0,055	-	0,053	-	0,037	-	0,042	-	0,042	-	0,045	-	0,049	-
11,82	7,13	-39,7	10,83	-8,4	9,95	-15,8	9,46	-20,0	6,63	-43,9	7,65	-35,3	7,65	-35,3	8,16	-31,0	8,84	-43,4
0,068	0,039	-	0,066	-	0,054	-	0,063	-	0,048	-	0,056	-	0,045	-	0,050	-	0,037	-
11,25	6,45	-42,7	10,95	-2,7	9,00	-20,9	10,26	-8,8	7,85	-31,2	9,24	-17,9	7,39	-34,3	8,31	-26,1	6,16	-58,6
0,102	0,095	-	0,095	-	0,100	-	-	-	0,091	-	0,142	-	0,099	-	0,153	-	0,099	-
13,53	12,55	-7,2	12,48	-7,8	13,25	-2,1	-	-	11,98	-11,5	18,76	+38,7	13,15	-2,8	20,27	+49,8	13,15	-26,4
0,176	0,168	-	0,163	-	0,179	-	0,185	-	0,147	-	0,195	-	0,159	-	0,216	-	0,172	-
25,71	24,47	-4,8	23,88	-7,1	26,13	+1,6	27,14	+5,6	21,54	-16,2	28,56	+11,1	23,23	-9,6	31,56	+22,8	25,14	-25,9
0,060	0,054	-	0,054	-	0,066	-	0,073	-	0,048	-	0,094	-	0,060	-	0,092	-	0,065	-
9,32	8,32	-10,7	8,37	-10,2	10,25	+10,0	11,35	+21,8	7,40	-20,6	10,78	+15,7	9,38	+0,6	14,29	+53,3	10,05	-18,3
0,009	0,017	-	-	-	0,014	-	-	-	0,041	-	-	-	-	-	0,017	-	-	-
1,80	3,38	+87,8	-	-	2,87	+59,4	-	-	8,40	+366,7	-	-	-	-	3,56	+97,8	-	-
0,054	0,035	-	0,049	-	0,047	-	0,059	-	0,028	-	0,028	-	0,022	-	0,023	-	0,038	-
9,37	6,05	-35,4	8,45	-9,8	8,24	-12,1	10,38	+10,8	4,84	-48,3	4,94	-47,3	3,76	-59,9	4,40	-53,0	6,59	-46,8
												haemolytisch geworden	haemolytisch geworden					

3. Aderlaß, P.Sch. ♀ 72 J. n
Hydrolyse

Material	Zeit	Temperatur	Bezugs= probe	Serum						Vollblut						Vergleich zur Be- zugsprobe leicht hämolytisch			
				24 Std.			48 Std.			24 Std.			48 Std.						
				4°	20°		4°	20°		4°	20°		4°	20°					
Wert				abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.		
Cystein= säure	-	-	-	-	-	-	-	0,007 1,14	-	-	-	0,016 2,62	-	0,039 6,51	-	0,023 3,94	-	0,041 7,00	-
Taurin	0,139 17,44	0,123 15,45	-11,4	0,121 15,18	-13,0	0,118 14,82	-15,0	0,096 12,05	-30,1	0,131 16,37	-6,2	0,262 32,83	+88,2	0,134 16,76	-3,9	0,116 14,56	-16,5		
Harnstoff	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Asparagin= säure	0,119 15,84	0,112 14,91	-5,9	0,118 15,70	-0,9	0,107 14,30	-9,7	0,075 9,97	-37,1	0,072 9,65	-39,1	0,132 17,57	+10,9	0,094 12,46	-21,3	0,097 12,87	-18,7		
Theonin	0,086 10,24	0,093 11,13	+8,7	0,096 11,40	+11,3	0,086 10,24	0,0	0,070 8,32	-18,7	0,078 9,32	-9,0	0,106 12,66	+23,6	0,087 10,39	+1,5	0,090 10,75	+5,0		
Serin	0,107 11,28	0,130 13,65	+21,0	0,121 12,67	+12,3	0,107 11,28	0,0	0,110 11,54	+2,3	0,103 10,87	-3,6	0,175 18,37	+62,9	0,101 10,59	-6,1	0,109 11,45	+1,5		
Glutamin= säure	0,082 120,26	0,880 129,48	+7,7	0,711 104,69	-12,9	0,756 111,24	-5,5	0,577 84,95	-29,4	0,753 119,78	-7,9	0,085 124,70	+3,7	0,687 101,33	-15,7	0,722 106,27	-12,6		
Citrullin	0,013 2,21	0,020 3,45	+56,1	0,151 2,64	+19,5	0,015 2,58	+16,7	0,014 2,40	+8,6	0,013 2,20	-0,5	0,012 2,05	-7,2	0,013 2,20	-0,5	0,013 2,20	-0,5		
Prolin	0,229 26,42	0,201 23,18	-12,3	0,186 21,36	-19,2	0,145 16,68	-36,9	0,128 14,70	-44,4	0,311 35,79	+35,5	0,238 27,42	+3,8	0,256 24,48	-7,3	0,219 25,27	-4,4		
Glycin	0,226 16,95	0,251 18,81	+11,0	0,228 17,08	+9,8	0,240 18,04	+6,4	0,195 14,67	-13,5	0,232 17,68	+4,3	0,330 24,76	+61,8	0,242 18,14	+7,0	0,242 18,14	+7,0		
Alanin	0,527 46,94	0,718 63,10	+34,4	0,495 44,12	-6,0	0,469 41,79	-11,0	0,396 35,29	-24,8	0,412 36,68	-21,9	0,516 45,98	-2,0	0,391 34,81	-25,6	0,453 40,39	-14,0		
Cystin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,094 22,58	-	0,064 15,40	-	0,088 21,07	-	0,081 19,57	-		
α-Amino= buttersäure	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,008 0,85	-	0,013 1,32	-	0,011 1,13	-	0,014 1,42	-		
Valin	0,609 32,98	0,249 29,18	-11,1	0,248 29,07	-11,9	0,229 26,84	-19,7	0,189 22,14	-32,9	0,189 22,11	-33,0	0,219 25,63	-22,3	0,194 22,75	-31,0	0,191 22,43	-32,0		
Methionin	0,019 2,86	0,016 2,39	-16,4	0,020 2,43	+2,4	0,015 2,29	-19,9	0,022 3,26	+14,0	0,017 2,58	-9,8	0,016 2,40	-16,1	0,018 2,58	-9,8	0,018 2,58	-9,8		
Isoleucin	0,078 10,19	0,060 7,85	-23,0	0,076 9,99	-2,0	0,051 6,65	-34,7	0,052 6,85	-32,8	0,047 6,11	-40,0	0,066 8,69	-14,7	0,052 6,83	-33,0	0,058 7,55	-25,9		
Leucin	0,156 22,57	0,121 15,91	-29,5	0,150 19,65	-12,9	0,101 13,08	-42,0	0,084 10,99	-51,3	0,095 12,41	-45,0	0,128 16,82	-25,5	0,105 13,82	-38,8	0,103 13,48	-40,3		
Tyrosin	0,072 6,94	0,050 9,07	+30,7	0,081 14,65	+111,1	0,038 6,84	-1,4	0,036 6,57	-5,3	0,037 6,63	-4,5	0,055 9,97	+43,7	0,042 7,65	+10,2	0,045 8,16	+17,6		
Phenyl= alanin	0,078 12,94	0,067 11,14	-13,9	0,087 14,40	+11,3	0,058 9,56	-26,1	0,055 9,15	-29,3	0,056 9,24	-28,6	0,078 12,89	-0,4	0,056 9,24	-28,6	0,056 9,24	-28,6		
Ornithin																		haemolytisch geworden	

4. Aderlaß H.N. ♂ 61 J., nn

Material	Zeit	Bezugs= probe	Serum						Vollblut	
			24 Std.			72 Std.			24 Std.	
			+ 40		+ 200	+ 200			+ 40	
Temperatur			abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.
Wert										
Cystein=	0,005	0,010	0,005		0,005		0,008		0,007	
säure	0,88	1,75	+98,9		0,88	0,0	1,31	+48,9	1,17	+33,0
Taurin	0,122	0,096			0,119		0,125		0,140	
	15,28	12,00	-21,5		14,92	-2,4	15,64	+2,4	17,47	+14,3
Harn=	4,726	3,605			4,336		5,115		4,807	
stoff	183,82	216,72	-23,6		260,41	-8,2	307,23	+8,2	188,70	+1,7
Arparagin=	0,021	0,036			0,042		0,021		0,044	
säure	2,82	4,83	+70,2		5,63	+98,4	2,82	0,0	5,90	+107,9
Threonin	-	-	-		-		-		-	
Serin	-	-	-		-		-		-	
Glutamin=	0,141	0,179			0,223		0,148		0,230	
säure	20,79	26,34	+26,7		32,80	+57,8	21,72	+4,5	33,88	+63,0
	0,035	0,023			0,038		0,038		0,034	
Citrallin	6,17	3,97	-35,7		6,61	+7,1	6,61	+7,1	5,87	-4,9
	0,238	0,183			0,031		0,256		0,293	
Prolin	27,37	21,05	-23,1		35,79	+30,8	29,48	+7,7	33,69	+23,1
	0,172	0,185			0,264		0,179		0,238	
Glycin	12,96	13,90	+7,3		19,79	+52,7	13,43	+3,6	17,90	+38,1
	0,230	0,215			0,268		0,259		0,270	
Alanin	20,46	19,13	-6,5		23,92	+16,9	23,12	+13,0	24,09	+17,7
	0,050	0,031			0,025		0,044		0,058	
Cystin	12,04	7,53	-37,5		6,02	-50,0	10,54	-12,5	14,05	+16,7
α-Aminobut=	0,008	0,005			0,005		0,008		0,007	
tersäure	0,85	0,57	-33,0		0,57	-33,0	0,85	0,0	0,76	-10,6
	0,202	0,170			0,197		0,222		0,226	
Valin	23,71	19,87	-16,2		23,07	-2,7	25,95	+9,4	26,49	+11,7
	0,031	0,028			0,021		0,035		0,037	
Methionin	4,63	4,12	-11,0		3,09	-33,3	5,15	+11,2	5,49	+18,6
	0,077	0,079			0,079		0,082		0,081	
Isoleucin	10,07	10,42	+3,5		10,42	+3,5	10,78	+7,1	11,98	+19,0
	0,124	0,135			0,135		0,141		0,144	
Leucin	16,31	17,73	+8,7		17,73	+8,7	18,44	+13,1	18,91	+15,9
	0,073	0,070			0,076		0,073		0,083	
Tyrosin	13,26	12,75	-3,8		13,77	+3,8	13,26	0,0	14,96	+12,8
	0,056	0,061			0,073		0,056		0,071	
Phenyl=	9,24	10,16	+10,0		12,00	+29,9	9,24	0,0	11,70	+26,6
alanin	0,205	0,174			0,225		0,217		-	
Ornithin	27,03	22,98	-15,0		29,74	+10,0	28,68	+6,1	-	
	0,228	0,173			0,244		0,228		-	
Lysin	33,38	25,29	-24,2		35,60	+6,7	33,38	0,0	-	
	0,064	0,057			0,071		0,072		0,066	
Histidin	10,00	8,81	-11,9		10,96	+9,6	11,19	+11,9	10,24	+2,4
	-	0,022			0,022		0,046		-	
Trypto=		4,45			4,45		9,33		-	
phan	0,046	0,062			-		0,049		0,046	
Arginin	8,08	10,78	+33,4		-		8,62	+6,7	8,08	0,0

enteiwist
aufbewahrt

Material	Bezugs= probe	Serum		Vollblut		Vergleich zur	
Zeit		48 Std.		72 Std.		Bezugsprobe	
Temperatur		+ 40				leicht hämol.	
Wert		abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.
Cystin=	0,006	0,004		0,006		0,006	
säure	1,05	0,70	-33,3	1,05	0,0	1,05	0,0
Taurin	0,088	0,079		0,177		0,072	
	11,06	9,90	-10,5	22,12	+100,0	9,02	-18,4
Harnstoff	4,053	3,897		4,184		3,586	
	243,44	234,08	-3,8	251,29	+3,2	215,35	-11,5
Asparagin=	0,010	0,031		0,068		0,012	
säure	1,29	4,18	+224,0	9,00	+597,7	1,61	+24,8
Threonin	-	0,089	-	0,128	-	-	-
		10,60		15,19			
Serin	-	-	-	-	-	-	-
Glutamin=	0,075	0,141		0,284		0,070	
säure	11,09	20,70	+86,7	41,77	+276,6	10,35	-6,7
Citrallin	0,036	0,030		0,040		0,032	
	6,35	5,29	-16,7	7,05	+11,0	5,64	-11,2
Prolin	0,263	0,263		0,366		0,176	
	30,32	30,32	0,0	42,11	+38,9	20,21	-33,4
Glycin	0,176	0,216		0,316		0,151	
	13,19	16,20	+22,8	23,74	+80,0	11,31	-14,3
Alanin	0,217	0,231		0,317		0,179	
	10,35	20,62	+6,6	28,27	+46,1	15,94	-17,6
Cystin	0,056	0,025		0,050		0,050	
	13,24	6,2	-53,2	3,95	-70,2	12,40	-6,3
αAmino=	0,013	0,009		0,018		0,013	
buttersäure	1,36	0,91	-33,1	1,81	+33,1	1,37	0,0
Valin	0,197	0,175		0,219		0,147	
	23,07	20,51	-11,1	25,63	+11,1	17,17	-25,6
Methionin	0,030	0,017		0,036		0,025	
	4,53	2,47	-45,5	5,35	+18,1	3,71	-18,1
Isoleucin	0,075	0,064		0,099		0,066	
	9,78	8,34	-14,7	12,94	+32,3	8,63	-11,8
Leucin	0,102	0,104		0,134		0,080	
	13,33	13,61	+2,1	17,58	+31,9	10,49	-21,3
Tyrosin	0,056	0,054		-	-	0,045	
	10,20	9,79	-4,0	-	-	8,16	-20,0
Phenyl=	0,034	0,041		-	-	0,036	
alanin	5,54	8,50	+53,4	-	-	5,91	+6,7
Ornithin	0,184	0,231		0,260		0,162	
	24,27	30,54	+25,8	34,58	+41,7	21,44	-11,7
Lysin	0,266	0,288		0,304		0,231	
	38,84	42,17	+8,6	44,49	+14,5	33,82	-12,9
Histidin	0,058	0,065		0,069		0,055	
	8,96	10,10	+12,7	10,67	+19,1	8,57	-4,4
Tryptophan	0,049	0,038		0,057		0,348	
	9,56	7,82	-18,2	11,73	+22,7	7,11	-25,6
Arginin	0,062	0,103		0,080		0,064	
	10,78	17,89	+66,0	14,01	+30,0	11,21	+4,0

6. Aderlaß, J.S. ♀ 40 J. n

Material	Bezugsprobe	Vollblut-Schüttelprobe	
		4 Std.	
Zeit			
Temperatur			
Wert		absoluter Wert	% Abweichung
Cysteinsäure	0,006 1,05	0,004 0,70	- 33,3
Taurin	0,084 10,48	0,213 26,65	+ 154,3
Harnstoff	4,209 252,80	3,914 235,08	- 7,0
Asparagin= säure	0,014 1,93	0,031 4,18	+ 116,6
Threonin	-	-	-
Serin	-	-	-
Glutamin= säure	0,090 13,31	0,161 23,66	+ 77,8
Citrullin	0,014 2,47	0,018 3,17	+ 28,3
Prolin	0,117 13,47	0,146 16,84	+ 25,0
Glycin	0,163 12,25	0,211 15,83	+ 29,2
Alanin	0,231 20,62	0,310 27,64	+ 34,0
Cystin	0,070 16,86	0,085 20,47	+ 21,4
α-Amino= buttersäure	0,013 1,36	0,015 1,59	+ 16,9
Valin	0,153 17,94	0,289 33,83	+ 88,6
Methionin	0,019 2,88	0,019 2,88	0,0
Isoleucin	0,050 6,60	0,061 9,05	+ 22,0
Leucin	0,089 11,63	0,106 13,10	+ 19,5
Tyrosin	0,029 5,30	0,034 6,12	+ 15,2
Phenylalanin	0,042 7,02	0,045 7,39	+ 5,3
Ornithin	0,063 8,29	0,095 12,62	+ 52,2
Lysin	0,169 24,76	9,205 29,94	+ 20,9
Histidin	0,049 7,62	0,080 12,39	+ 62,6
Tryptophan	-	0,049 9,96	-
Arginin	-	0,038 6,68	-

7. Aderlaß, M.S. ♀, 60 J. nn

Material	Bezugs= probe	Serum		Vollblut		Vollbl.-Sch.	
Zeit		72 Std.		40		4 Std.	
Temperatur							
Wert		abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.	abs.W.	% Abw.
Cystin=	0,004	0,004		0,002		-	-
säure	0,70	0,70	0,0	0,35	-50,0	-	-
Taurin	0,184	0,214		0,274		-	-
	23,00	26,78	+16,4	34,27	+49,0	-	-
Harnstoff	4,443	4,443		4,131		-	-
	266,85	266,85	0,0	248,12	-7,0	375	
Asparagin=	0,022	0,031		0,053		0,031	
säure	2,89	4,18	+44,6	7,07	+144,6	5,25	+81,7
Threonin	-	-	-	0,118		-	-
				14,04		-	-
Serin	-	-	-	-	-	-	-
Glutamin=	0,098			0,254		0,266	
säure	14,42	-	-	37,33	+158,9	39,18	+171,7
Citrallin	0,022			0,022		0,022	
	3,88	-	-	3,88	0,0	3,88	0,0
Prolin	0,336			0,307		0,351	
	38,78	-	-	35,37	-8,8	40,42	+4,2
Glycin	0,366			0,439		0,439	
	27,41	-	-	32,97	+19,8	32,97	+19,8
Alanin	0,480			0,458		0,481	
	42,73	-	-	40,82	-4,5	43,58	+2,0
Cystin	0,050			-	-	0,085	
α-Amino=	0,010			-	-	0,013	
buttersäure	1,13	-	-	-	-	1,36	+20,4
Valin	0,223	0,197		0,219		0,225	
	26,15	23,07	-11,8	25,63	-2,0	26,40	+1,0
Methionin	0,017	0,017		0,014		0,017	
	2,47	2,47	0,0	2,06	-16,6	2,47	0,0
Isoleucin	0,090	0,083		0,090		0,101	
	11,79	10,93	-7,3	11,79	0,0	13,80	+17,0
Leucin	0,134	0,130		0,132		0,162	
	17,58	17,02	-3,2	17,30	-1,6	21,27	+21,0
Tyrosin	0,052	0,045		0,050		0,056	
	9,39	8,16	-13,1	8,98	-4,4	10,20	+8,6
Phenylalanin	0,067	0,067		0,069		0,072	
	11,08	11,08	0,0	11,45	+3,3	12,97	+17,1
Ornithin	0,150	0,140		0,178		0,208	
	19,82	18,50	-6,7	23,55	+118,8	35,20	+77,6
Lysin	0,207	0,190		0,216		0,259	
	30,26	27,84	-8,0	31,56	+4,3	37,87	+25,1
Histidin	0,076	0,079		0,085		0,107	
	11,81	12,19	+3,2	13,15	+11,3	16,58	+40,4
Tryptophan	-	-	-	-	-	0,017	
						3,56	-
Arginin	0,061	0,058		0,043		0,043	
	10,56	10,13	-4,1	7,54	-28,6	7,54	-28,6

haemolytisch
geworden

8. Aderlaß, M.S. ♀ 60 J. nn

Material	Bezugs=	Serum	Vollblut	Vollblut-Sch.	Bezugs=	Serum	Vollblut	Vollblut-Sch.
Zeit	probe	72 Std.	40	4 Std.	probe	72 Std.	40	4 Std.
Temperatur					Hydro=			
Wert		abs.W. % Abw.	abs.W. % Abw.	abs.W. % Abw.	lyse	abs.W. % Abw.	abs.W. % Abw.	abs.W. % Abw.
Cystein=säure	-	-	-	0,010	b	0,018	0,018	0,023
				1,75	-	3,07	3,07	3,94
Taurin	0,188	0,206	0,275	0,166	0,116	0,198	0,230	0,137
	23,88	25,84 +9,6	34,45 +46,1	20,74 -12,1	14,56	24,74 +69,9	28,75 +97,5	17,10 +17,4
Harnstoff	3,040	3,362	3,508	4,092	-	-	-	-
	182,58	201,89 +10,6	210,67 +15,4	245,78 +34,6	-	-	-	-
Asparagin=säure	0,024	0,036	0,063	0,018	0,118	0,127	0,151	0,094
	3,22	4,83 +50,0	8,44 +162,1	2,41 -25,2	15,68	16,88 +7,7	20,10 +28,2	12,46 -20,5
Threonin	0,096	0,123	0,141	0,111	0,129	0,129	0,138	0,117
	11,46	14,69 +28,1	16,84 +47,0	13,26 +15,7	15,41	15,41 0,0	16,48 +6,9	13,97 -9,3
Serin	-	-	-	-	0,142	0,172	0,152	0,109
					14,88	18,28 +22,8	16,02 +7,7	11,45 -23,1
Glutamin=säure	0,080	0,135	0,298	0,104	0,731	0,565	0,581	0,645
	11,83	19,37 +68,0	43,89 +271,0	15,25 +28,9	107,63	83,16 -22,7	85,47 -20,6	93,71 -13,2
Citrullin	0,009	0,010	0,020	0,030	0,013	0,018	0,013	0,008
	1,59	1,75 +10,0	3,52 +121,4	5,29 +232,7	2,20	3,09 +40,5	2,20 0,0	1,30 -40,9
Prolin	0,278	0,384	0,402	0,347	0,518	0,329	0,366	0,347
	32,00	44,21 +38,2	46,34 +44,8	40,00 +25,0	59,66	37,97 -36,4	42,11 -29,4	40,00 -33,0
Glycin	0,261	0,361	0,436	0,358	0,383	0,420	0,439	0,358
	19,60	27,09 +38,2	32,77 +67,2	26,85 +37,0	28,76	31,56 +9,7	32,97 +14,6	26,85 -6,6
Alanin	0,274	0,346	0,432	0,385	0,343	0,379	0,403	0,325
	24,45	30,83 +26,1	38,52 +57,5	34,28 +40,2	30,56	33,75 +10,4	35,88 +17,4	28,97 -5,2
Cystin	0,040	0,031	0,063	0,063	0,050	0,025	0,056	0,075
	9,63	7,50 -22,1	15,05 +56,3	15,05 +56,3	12,04	6,02 -50,0	13,55 +12,5	18,06 +50,0
α-Amino=buttersäure	0,007	0,005	0,014	0,008	0,010	0,005	0,014	0,008
	0,68	0,57 -16,2	1,42 +108,8	0,85 +25,0	1,13	0,57 -49,6	1,42 +25,7	0,85 -24,8
Valin	0,160	0,191	0,224	0,224	0,191	0,202	0,197	0,181
	18,7	22,43 +19,9	26,27 +40,4	26,27 +40,4	22,43	23,71 +5,7	23,07 +2,9	21,15 -5,7
Methionin	0,019	0,010	0,010	0,017	0,014	0,017	0,014	0,017
	2,88	1,55 -46,2	1,55 -46,2	2,57 -10,8	2,06	2,58 +25,2	2,06 0,0	2,57 +24,8
Isoleucin	0,059	0,069	0,077	0,056	0,059	0,077	0,069	0,055
	7,19	7,24 +0,7	10,07 +40,0	7,24 +0,7	7,19	10,07 +40,0	8,99 +25,0	7,19 0,0
Leucin	0,011	0,116	0,124	0,111	0,098	0,130	0,108	0,096
	11,91	15,25 +28,0	16,31 +36,9	14,54 +22,1	12,76	17,02 +33,4	14,18 +11,1	12,41 -2,7
Tyrosin	-	0,051	0,051	0,055	0,045	0,048	0,042	0,042
		9,18	9,18	10,20	8,16	8,67 +6,3	7,65 -6,2	7,65 -6,2
Phenylalanin	-	0,064	0,070	0,067	0,056	0,070	0,070	0,056
		10,62	11,54	11,08	9,24	11,54 +24,9	11,54 +24,9	9,24 0,0
Ornithin	0,141	-	0,165	0,141				
	18,67	-	21,86 +17,1	18,67 0,0				
Lysin	0,160	-	0,201	0,190				
	23,46	-	29,12 +24,1	27,72 +18,2				
Histidin	0,066	0,070	0,094	0,085				
	10,19	10,90 +7,0	14,52 +42,5	13,23 +29,8				
Tryptophan	0,015	-	0,037	-				
	3,02	-	7,56 +150,3	-				
Arginin	0,059	0,071	0,063	0,064				
	10,35	12,42 +20,0	11,05 +6,8	11,10 +7,2				

haemolytisch
geworden

haemolytisch
geworden

9. Aderlaß, M.S. ♀ 60 J. n

Material		Vollblut			
Zeit	Bezugs=	48 Std.		72 Std.	
Temperatur	probe	200			
Wert		abs. Wert	% Abweich.	abs. Wert	% Abweich.
Cystein=	0,010	0,021		0,005	
säure	1,75	3,5	+100,0	0,88	-49,7
Taurin	0,252	0,287		0,353	
	31,55	35,90	+13,8	44,18	+40,0
Harnstoff	3,847	3,897		4,386	
	231,03	234,08	+1,3	263,45	+14,0
Asparagin=	0,019	0,075		0,072	
säure	2,57	9,97	+287,9	9,65	+275,5
Threonin	0,096	0,106	-	-	-
	11,46	12,61			
Serin	-	-	-	-	-
Glutamin=	0,088	0,359		0,361	
säure	12,94	52,86	+308,5	53,13	+310,6
Citrullin	0,020	0,018		0,030	
	3,52	3,17	-10,0	6,61	+87,8
Prolin	0,263	0,293		0,274	
	30,32	33,69	+11,1	31,58	+4,2
Glycin	0,384	0,402		0,502	
	28,83	30,15	+4,6	37,69	+30,7
Alanin	0,291	0,429		0,522	
	25,94	38,27	+47,5	46,51	+79,3
Cystin	0,090	0,040		0,019	
	21,67	9,63	-55,6	4,52	-79,1
α-Amino=	0,013	0,009		0,005	
buttersäure	1,36	0,91	-33,1	0,57	-58,1
Valin	0,160	0,175		0,202	
	18,71	20,51	+9,6	23,71	+26,7
Methionin	0,017	0,019		0,010	
	2,47	2,88	+16,6	1,55	-37,2
Isoleucin	0,055	0,057		0,069	
	7,19	7,48	+4,0	7,24	+0,7
Leucin	0,084	0,104		0,122	
	11,06	13,61	+23,1	15,95	+44,2
Tyrosin	0,041	0,036		0,042	
	7,35	6,53	-11,2	7,65	+4,1
Phenylalanin	0,047	0,054		0,064	
	7,76	8,87	+14,3	10,62	+36,9
Ornithin	0,116	0,184		0,175	
	15,38	24,27	+57,8	23,07	+50,0
Lysin	0,170	0,232		0,240	
	24,92	33,99	+36,4	35,12	+40,9
Histidin	0,064	0,098		0,092	
	9,91	15,24	+53,8	14,29	+44,2
Tryptophan	-	0,016	-	-	-
Arginin	0,061	0,049		0,049	
	10,56	8,62	-18,4	8,62	-18,4

haemolytisch
geworden

Tabelle 2 Aminosäurewerte in μ g der sofort bearbeiteten Portionen von 9 Aderlaßbluten (Bezugswerte für weitere, verschiedenen Versuchsbedingungen ausgesetzten Serumportionen).

n = nüchtern
nn = nicht nüchtern

Aderlaß Patient	1. R ♂ nn	2. Sch ♀ nn	3. Sch ♀ n	4. N ♂ nn	5. N ♂ nn	6. St ♀ n	7. S ♀ nn	8. S ♀ nn	9. S ♀ n
Cystein=säure	8,62	-	-	0,88	1,05	1,05	0,7	----	1,75
Taurin	15,61	21,16	16,56	15,28	11,06	10,48	23,00	23,58	31,55
Harnstoff	418,89	221,05	158,64	283,82	243,44	252,80	266,85	182,58	231,03
Asparagin=säure	3,37	2,76	2,04	2,82	1,29	1,93	2,89	3,22	2,57
Threonin	----	----	10,24	----	----	----	15,41	----	----
Serin	----	----	11,28	----	----	----	14,88	----	----
Glutamin=säure	15,44	13,53	14,12	20,79	11,09	13,31	14,42	11,83	12,94
Citrullin	3,12	1,32	3,68	6,17	6,35	2,47	3,88	1,59	3,52
Prolin	27,52	25,82	29,20	27,37	30,32	13,47	38,78	32,00	30,32
Glycin	23,45	9,67	10,11	12,96	13,19	12,25	27,51	19,60	28,83
Alanin	41,82	45,09	45,01	20,46	19,35	20,62	42,73	24,45	25,94
Cystin	---	---	---	12,04	13,24	16,86	12,04	9,63	21,67
α -Amino=buttersäure	----	----	----	0,85	1,36	1,36	1,13	0,68	1,36
Valin	23,86	24,56	27,61	23,71	23,07	17,94	26,15	18,71	18,71
Methionin	----	----	1,15	4,63	4,53	2,88	2,47	2,88	2,47
Isoleucin	11,70	9,29	7,98	10,07	9,78	6,60	11,79	7,19	7,19
Leucin	15,62	15,16	13,08	16,31	13,33	11,63	17,58	11,91	11,06
Tyrosin	17,59	9,32	11,82	13,26	10,20	5,30	9,39	----	7,35
Phenylalanin	15,39	7,75	11,25	9,24	5,54	7,02	11,08	----	7,76
Ornithin	14,80	14,60	13,53	27,03	24,27	8,29	19,82	18,67	15,38
Lysin	36,13	24,37	25,71	33,38	38,84	24,76	30,26	23,46	24,92
Histidin	12,77	6,66	9,32	10,00	8,96	7,62	11,81	10,19	9,91
Tryptophan	3,45	----	1,80	----	9,56	----	----	3,02	----
Arginin	5,20	7,41	9,37	8,08	10,78	----	10,56	10,35	10,56

6fach-Analyse eines Nüchternserums vor und nach Hydrolyse
zur Bestimmung des mittleren Fehlers

H.S. ♂, 22 J., n, gesund

Aminosäure	vor der Hydrolyse							nach der Hydrolyse						
	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6	Mittel= wert= M	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Mittel= wert= M	
Cystein= säure	0,008 1,31	-----	0,010 1,75	0,005 0,88	0,005 0,88	-----	0,007 1,21	0,031 5,25	0,035 5,87	0,026 4,38	0,029 4,97	0,053 9,03	0,035 5,90	
Taurin	0,087 10,92	-----	0,096 12,01	0,081 10,19	0,087 10,92	0,096 12,01	0,089 11,21	0,084 10,55	0,092 11,57	0,076 9,46	0,092 11,73	0,102 12,73	0,089 11,21	
Harnstoff	3,844 231,15	-----	3,800 228,23	3,700 222,38	3,654 219,45	3,167 190,19	3,632 218,28	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Asparagin= säure	0,012 1,61	0,012 1,61	0,012 1,61	0,009 1,21	0,015 2,01	0,012 1,61	0,012 1,61	0,105 14,07	0,110 14,58	0,103 13,67	0,116 15,76	0,112 14,97	0,109 14,61	
Threonin	0,138 16,48	0,138 16,48	0,147 17,56	0,135 16,12	0,138 16,48	0,135 16,12	0,139 16,64	0,150 17,91	0,149 17,74	0,129 15,41	0,155 18,44	0,149 17,74	0,146 17,45	
Serin	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,136 14,31	0,140 14,73	0,109 11,45	0,132 13,88	0,140 14,73	0,131 13,82	
Glutamin= säure	0,069 10,17	0,075 11,09	0,060 8,78	0,057 8,32	0,066 9,70	0,072 10,63	0,067 9,78	0,521 76,70	0,641 94,27	0,672 98,82	0,649 95,50	0,662 97,35	0,629 92,53	
Citrullin	0,020 3,53	0,033 5,73	0,023 3,97	0,028 4,85	0,033 5,73	0,028 4,85	0,028 4,78	0,020 3,53	0,012 2,19	0,028 4,85	0,030 5,25	0,030 5,25	0,024 4,21	
Prolin	0,141 16,28	0,173 19,90	0,157 18,09	0,126 14,50	0,236 27,16	0,251 28,90	0,181 20,71	0,236 27,14	0,211 24,27	0,204 23,52	0,171 19,72	0,159 18,31	0,196 22,59	
Glycin	0,254 19,08	0,257 10,31	0,242 18,14	0,257 19,31	0,270 20,26	0,264 19,79	0,257 19,32	0,358 26,85	0,343 25,76	0,351 26,38	0,343 25,71	0,346 25,98	0,348 26,14	
Alanin	0,233 20,73	0,239 21,26	0,227 20,20	0,227 20,20	0,239 21,26	0,251 22,32	0,236 21,00	0,268 23,92	0,244 21,71	0,256 22,85	0,252 22,46	0,263 23,47	0,257 22,88	
Cystin	0,081 19,57	0,088 21,07	0,075 18,06	0,063 15,05	0,094 22,58	0,081 19,57	0,080 19,32	0,063 15,05	0,080 19,16	-----	0,057 13,69	0,063 15,06	0,061 15,74	
-Amino= buttersäure	0,025 2,55	0,022 2,27	0,016 1,70	0,016 1,70	0,016 1,70	0,025 2,55	0,020 2,08	0,016 1,70	0,023 2,35	0,014 1,42	0,016 1,68	0,023 2,35	0,018 1,90	
Valin	0,222 25,95	0,219 25,63	0,238 27,88	0,249 29,16	0,216 25,31	0,222 25,95	0,228 26,65	0,230 26,92	0,225 26,37	0,205 24,03	0,222 26,04	0,215 25,15	0,219 25,70	
Methionin	0,031 4,63	0,028 4,12	0,021 3,09	0,024 3,60	0,031 4,63	0,031 4,63	0,028 4,12	0,028 4,12	0,024 3,62	0,024 3,60	0,030 4,50	0,027 4,07	0,027 3,98	
Isoleucin	0,063 8,27	0,066 8,63	0,066 8,60	0,058 7,55	0,060 7,91	0,060 7,91	0,062 8,15	0,055 7,19	0,059 7,79	0,055 7,19	0,062 8,14	0,070 9,20	0,060 7,91	
Leucin	0,119 15,60	0,130 17,02	0,114 14,89	0,108 14,18	0,116 15,15	0,119 15,60	0,118 15,41	0,122 15,95	0,130 17,00	0,119 15,60	0,130 17,00	0,145 19,08	0,129 16,93	
Tyrosin	0,053 9,65	0,051 9,18	0,053 9,69	0,059 10,71	0,051 9,18	0,062 11,22	0,055 9,94	0,056 10,20	0,056 10,18	0,042 7,65	0,051 9,16	0,051 9,16	0,051 9,27	
Phenylalanin	0,048 7,85	0,045 7,39	0,050 8,31	0,053 8,77	0,042 6,93	0,056 9,24	0,049 8,08	0,078 12,93	0,080 13,20	0,064 10,70	0,072 11,88	0,075 12,32	0,074 12,21	
Ornithin	0,058 7,69	0,059 7,82	0,058 7,70	0,058 7,70	0,058 7,69	0,056 7,34	0,058 7,66	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Lysin	0,160 23,44	0,156 22,98	0,156 22,98	0,153 22,37	0,151 22,06	0,156 22,98	0,155 22,80	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Histidin	0,059 9,11	0,054 8,44	0,054 8,44	0,054 8,44	0,052 8,05	0,057 8,78	0,055 8,54	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Tryptophan	0,054 10,95	0,051 10,43	0,053 10,78	0,048 9,73	0,043 8,76	0,039 8,00	0,048 9,78	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Arginin	0,087 15,08	0,093 16,13	0,083 14,45	0,091 15,92	0,092 16,02	0,098 16,96	0,091 15,76	-----	-----	-----	-----	-----	-----	

Tabelle 1 Methodische Fehlerbreite, bestimmt an einer 6fach-
Bestimmung eines Nüchternserums vor und nach Hydrolyse

Aminosäure	n	vor Hydrolyse					nach Hydrolyse				
		$\bar{X} = M$	$S = \sigma$	$Sx^- = \sigma M$	$\frac{100 \cdot S}{\bar{X}}$		$X = M$	$S = \sigma$	$S\bar{x} = \sigma M$	$\frac{100 \cdot S}{\bar{X}}$	
Cystein=säure	4	0,007 1,21	0,002 4495 0,416 09	0,001 225 0,208 045	[34,7]		0,035 5,90	0,010 677 1,8300	0,004 775 0,818 389	[30,77]	
Taurin	5	0,089 11,21	0,006 5192 0,691 148	0,002 915 0,309 235	6,75		0,089 11,21	0,009 7468 1,2458	0,004 359 0,557 130	11,03	
Harnstoff	5	3,632 218,28	0,272 33 16,369	0,121 787 7,320 330	7,50		-----	-----	-----	-----	
Asparagin=säure	6	0,012 1,61	0,001 8976 0,252 98	0,000 775 0,103 278	15,77		0,109 14,61	0,005 2678 0,816 72	0,002 356 0,365 243	5,21	
Threonin	6	0,139 16,64	0,004 4497 0,541 11	0,001 817 0,220 906	3,23		0,146 17,45	0,101 05 1,1749	0,004 494 0,525 423	6,81	
Serin	-	-----	-----	-----	---		0,131 13,82	0,012 962 1,3717	0,005 797 0,613 434	9,91	
Glutamin=säure	6	0,067 9,78	0,006 9714 1,0704	0,002 846 0,436 987	10,68		0,629 92,53	0,061 535 9,0171	0,027 519 4,032 511	9,77	
Citrullin	6	0,028 4,78	0,005 2726 0,898 15	0,002 153 0,366 667	18,81		0,024 4,21	0,007 874 1,3337	0,003 521 0,596 440	32,25	
Prolin	6	0,181 20,71	0,041 905 5,9057	0,017 108 2,410 981	25,84		0,196 22,59	0,031 158 3,5688	0,013 934 1,595 993	15,85	
Glycin	6	0,257 19,32	0,009 5079 0,7148	0,003 882 0,291 815	3,70		0,348 26,14	0,006 4031 0,478 54	0,002 864 0,214 007	1,84	
Alanin	6	0,236 21,00	0,009 0094 0,8038	0,003 715 0,328 149	3,85		0,257 22,88	0,0093808 0,862 55	0,004 195 0,385 739	3,71	
Cystin	6	0,080 19,32	0,010 733 2,5937	0,004 382 1,058 869	13,42		0,061 15,74	0,011 314 2,3691	0,005 657 1,184 55	16,8	
L-Amino buttersäure	6	0,020 2,08	0,004 5826 0,511 98	0,001 871 6,209 014	23,76		0,018 1,90	0,004 3589 0,425 44	0,001 949 0,190 260	23,31	
Valin	6	0,228 26,65	0,012 946 1,5251	0,005 285 0,622 616	5,70		0,219 25,70	0,009 7468 1,134	0,004 359 0,507 132	4,43	
Methionin	6	0,028 4,12	0,004 2895 0,649 77	0,001 751 0,265 266	15,55		0,027 3,98	0,002 6458 0,364 69	0,001 183 0,163 092	9,48	
Isoleucin	6	0,062 8,15	0,003 4059 0,429 54	0,001 390 0,175 358	5,38		0,06 7,91	0,006 245 0,8167	0,002 793 0,365 234	10,36	
Leucin	6	0,118 15,41	0,007 2939 0,950 48	0,002 978 0,388 030	6,18		0,129 16,93	0,010 099 0 1,3566	0,004 516 0,606 681	7,92	
Tyrosin	6	0,055 9,94	0,004 5826 0,840 61	0,001 871 0,343 176	8,40		0,051 9,27	0,005 7446 1,0418	0,002 569 0,465 900	11,25	
Phenylalanin	6	0,049 8,08	0,005 1381 0,863 26	0,002 098 0,352 423	10,59		0,074 12,21	0,006 245 0,987 37	0,002 793 0,441 559	8,27	
Ornithin	6	0,058 7,66	0,001 0,160 19	0,000 408 0,065 397	1,91		-----	-----	-----	-----	
Lysin	6	0,155 22,80	0,003 0984 0,497 87	0,001 265 0,203 254	2,09		-----	-----	-----	-----	
Histidin	6	0,055 8,54	0,002 5298 0,361 28	0,001 033 0,147 491	4,42		-----	-----	-----	-----	
Tryptophan	6	0,048 9,78	0,005 7619 1,1843	0,002 352 0,483 486	12,06		-----	-----	-----	-----	
Arginin	6	0,091 15,76	0,006 5574 0,877 34	0,002 677 0,358 171	6,39		-----	-----	-----	-----	

9,64%
= ± 4,82%

ohne Cysteinsäure

11,07%
= * 5,54%

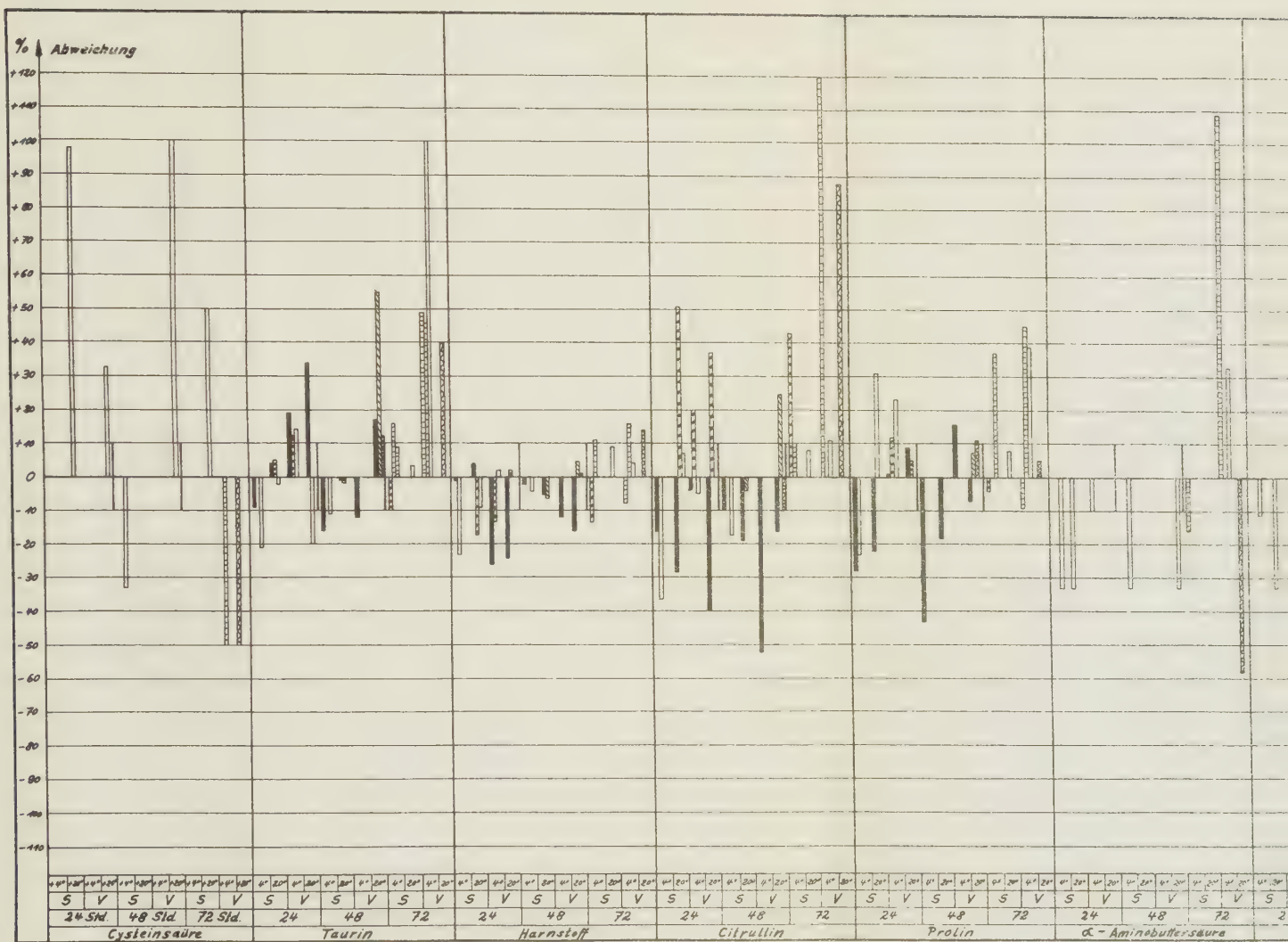


Abb. 5

Konzentrationsveränderungen der AS aus Gruppe 2 bei verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen.

○ - Bezugsprobe

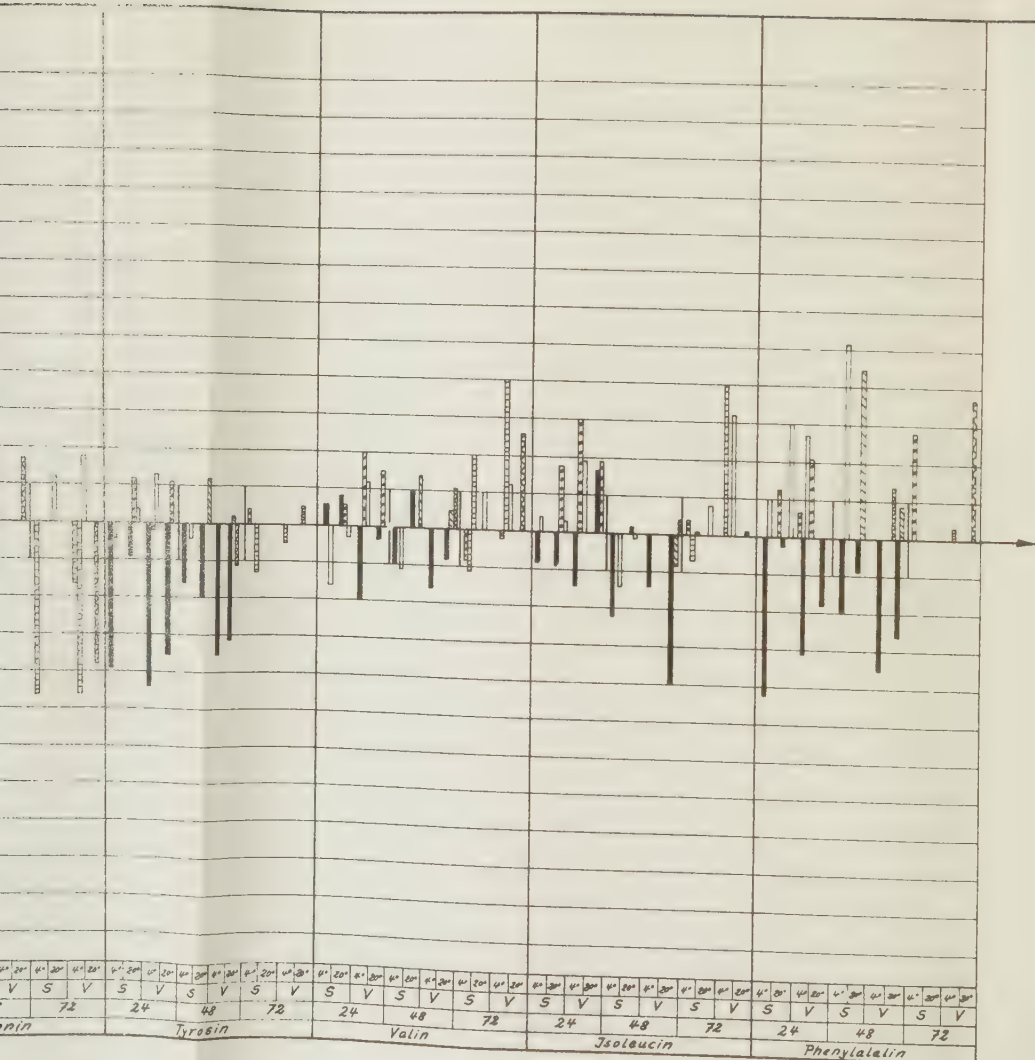
Sch	♀	n
N	♂	nn
Sch	♀	nn
R	♂	nn
S	♀	nn
S	♀	n

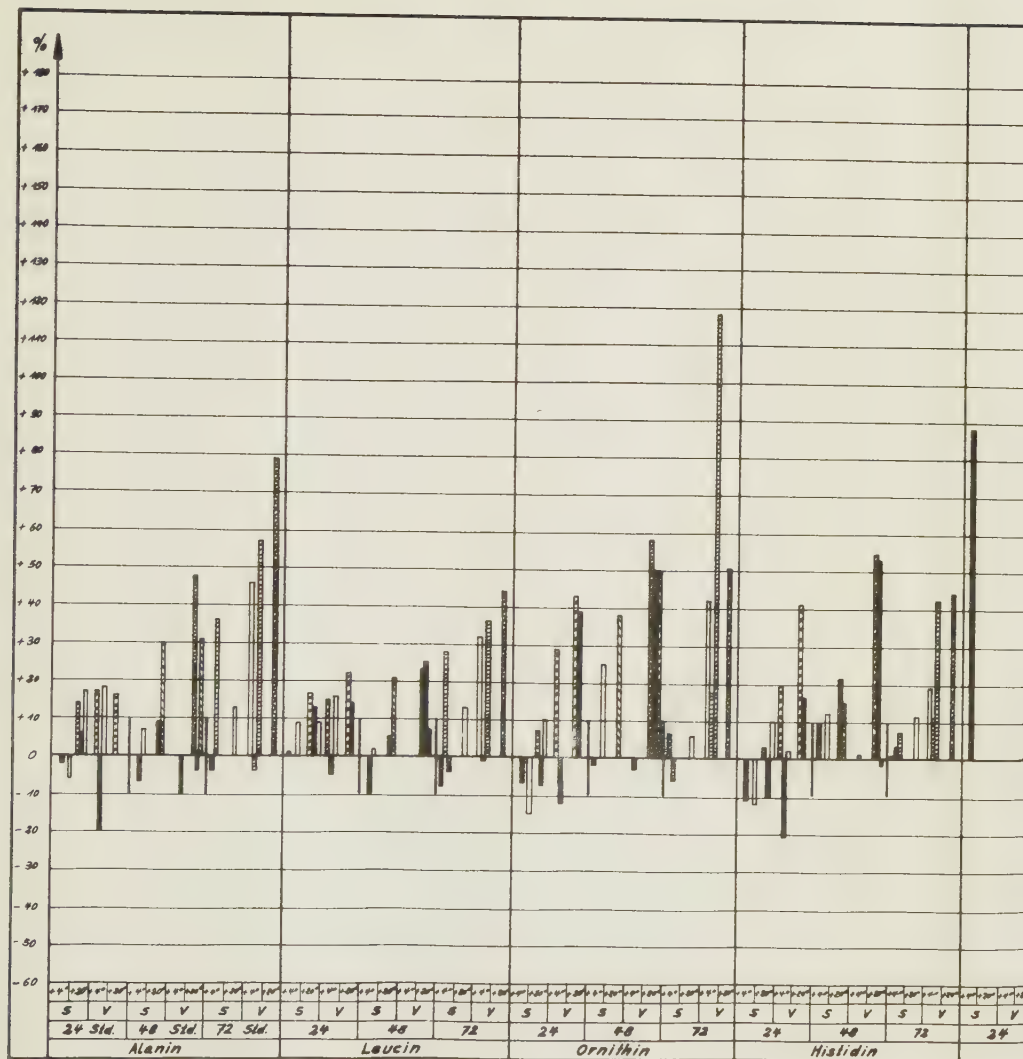
n nüchtern

nn nicht nüchtern

S Serum

V Vollblut





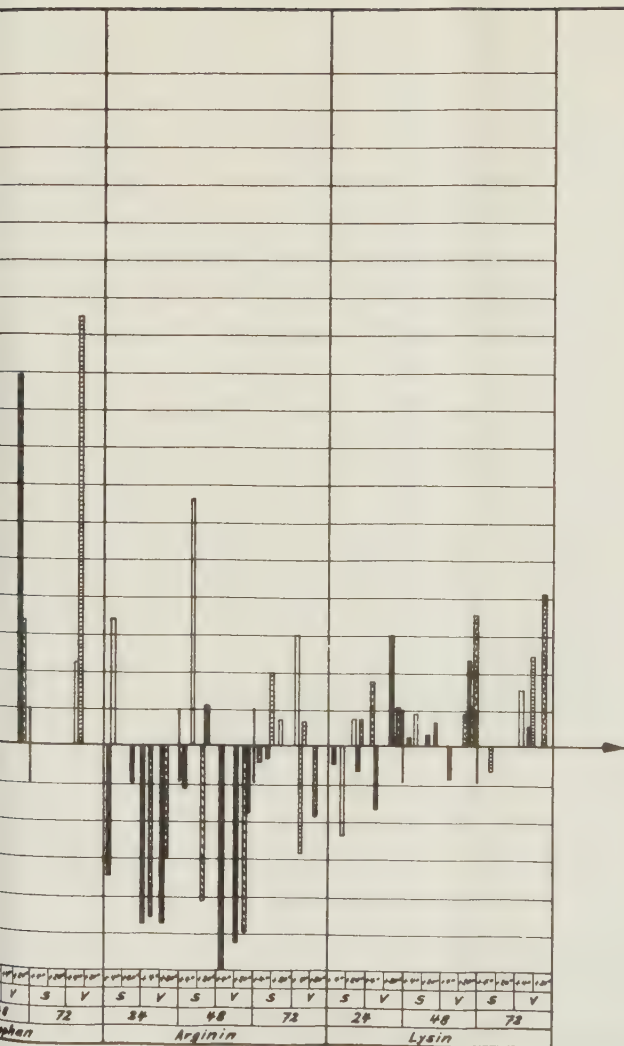


Abb.: 6

Konzentrationsveränderungen der AS aus Gruppe 3 bei verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen.

○ - Bezugsprobe

Sch	♀	n
N	♂	nn
Sch	♀	nn
R	♂	nn
S	♀	nn
S	♀	n

n nüchtern

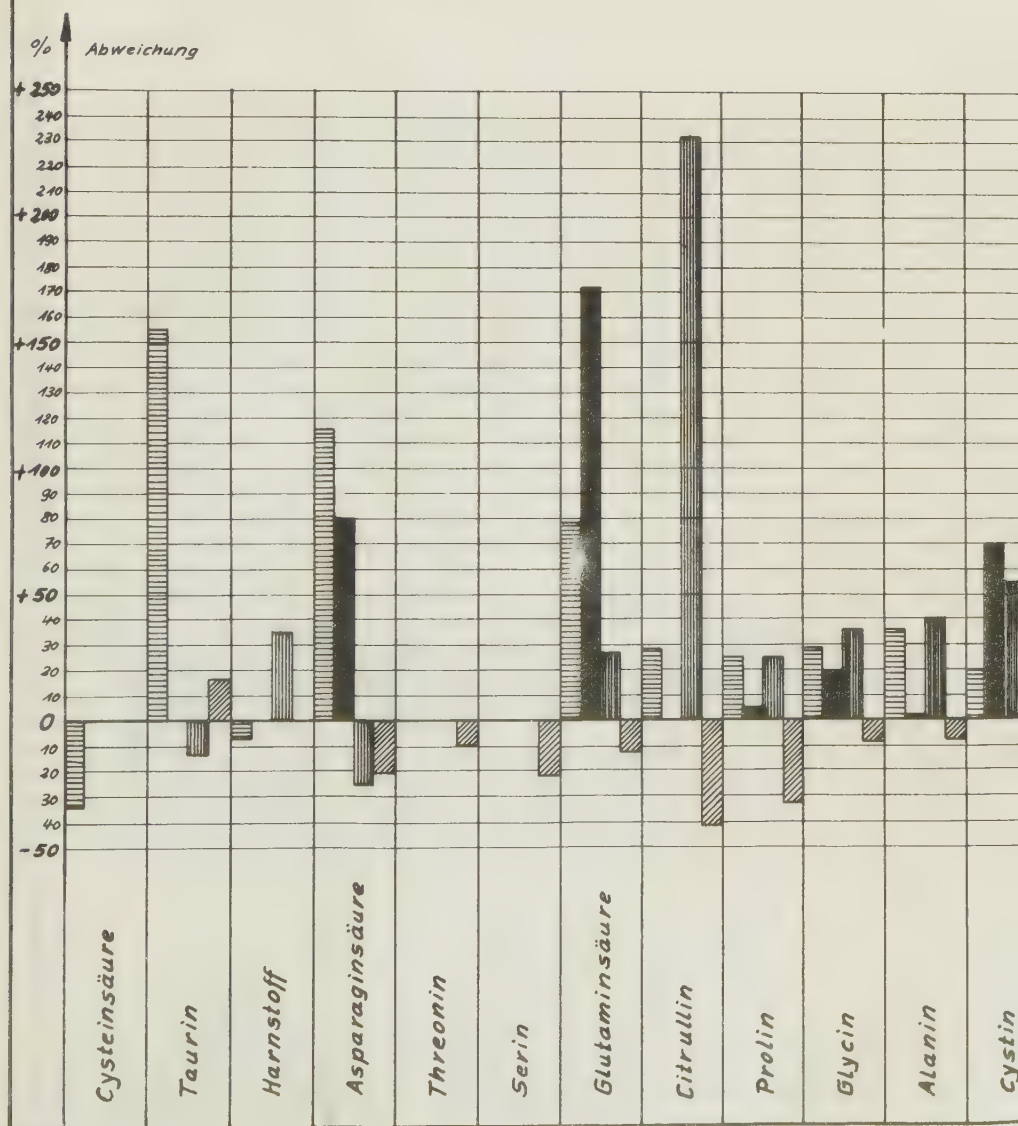
nn nicht nüchtern

S Serum

V Vollblut

Abb. 11

A5 Konzentrationsveränderungen d
ausgesetzter Vollblut



vierstündigem Schütteln

en

	St	♀	n	
	S	♀	nn	haemolytisch
	S	♀	nn	
	S	♀	nn	hydrolysiert
			n	nüchtern
			nn	nicht nüchtern

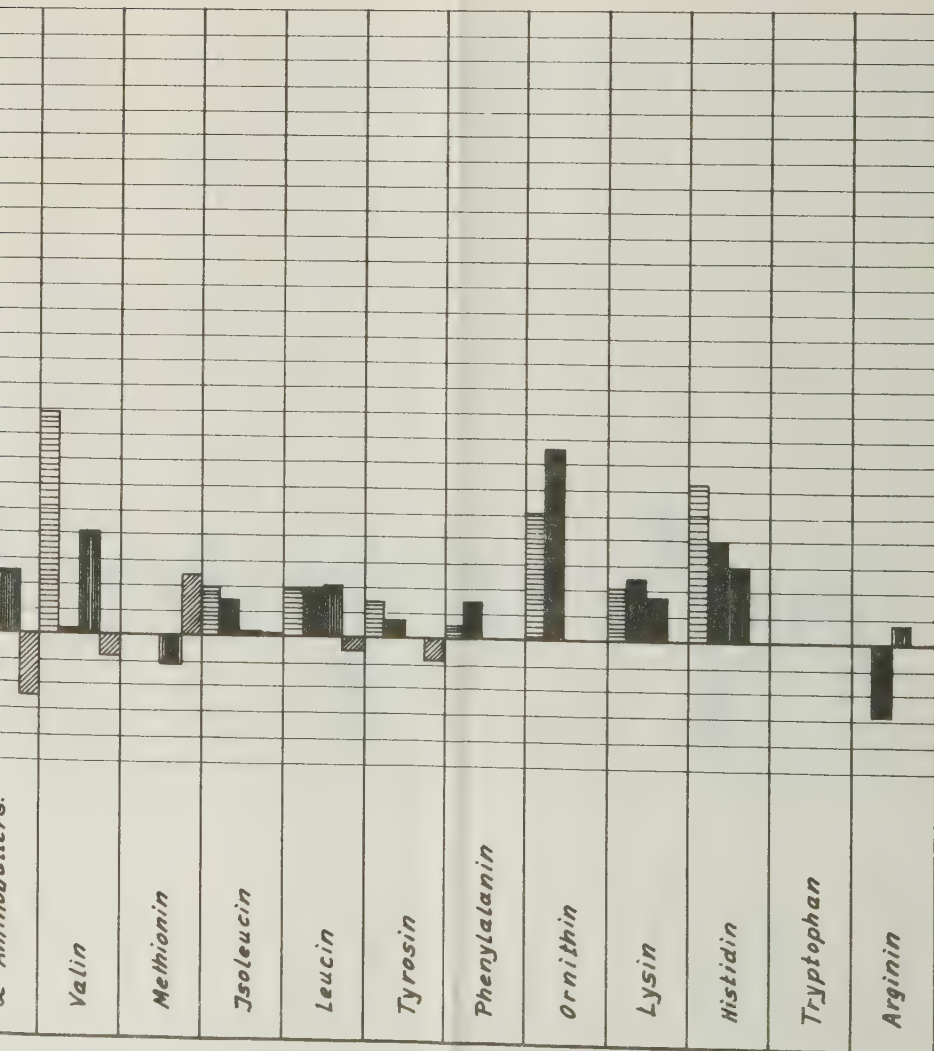
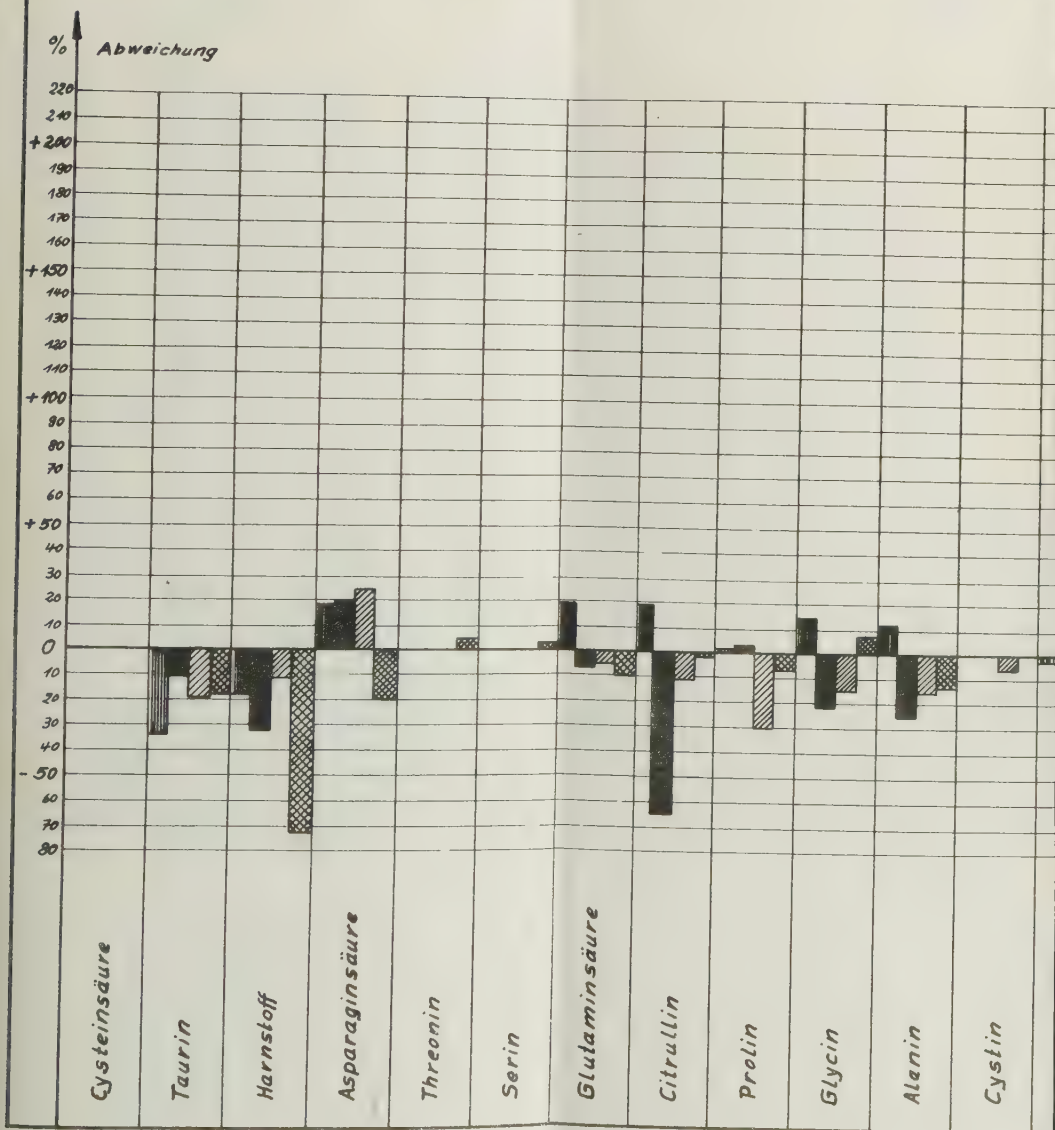
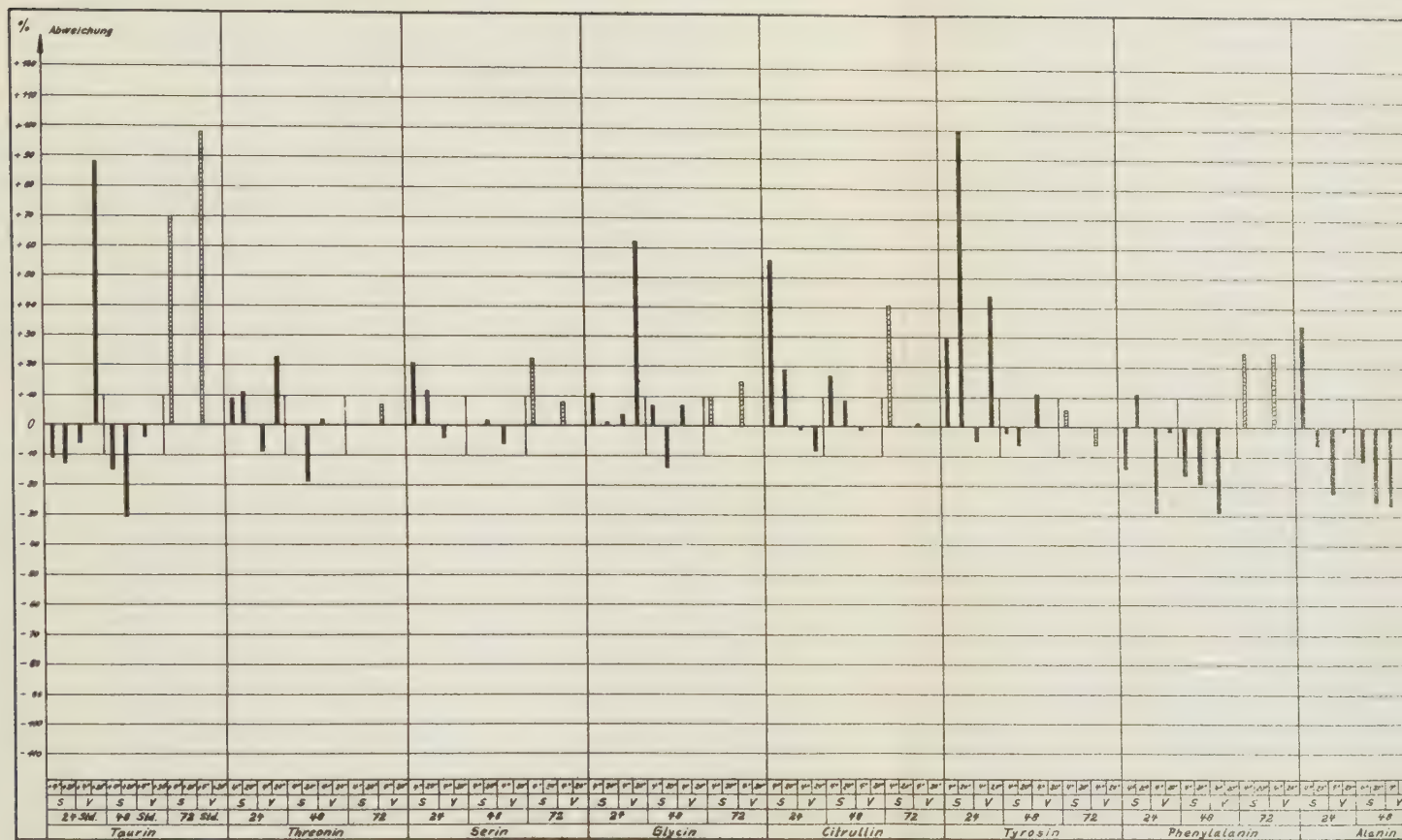


Abb. 12

AS Konzentrationsveränderungen dreier
haemolytisch gewordener S





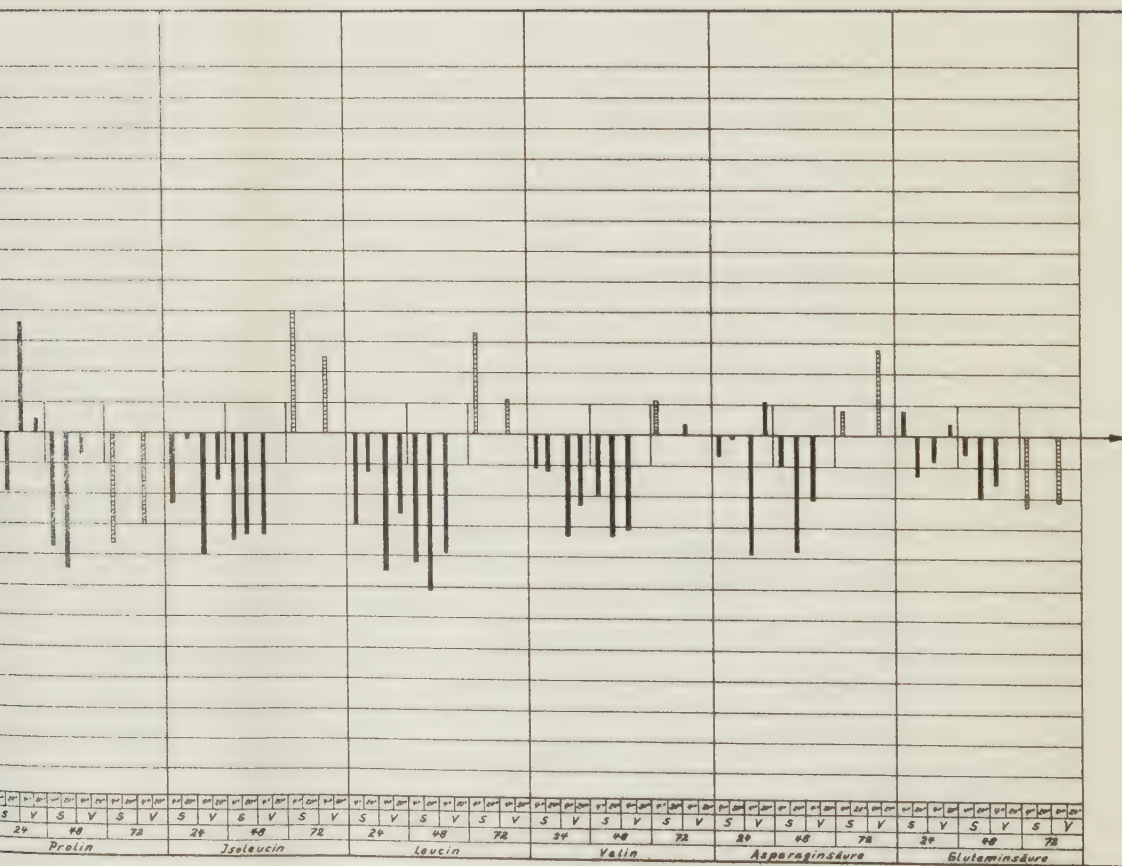


Abb. 13

Aminosäuren - Konzentrationsveränderungen hydrolysierter Proben unter verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen.

○ = Bezugsprobe

Sch	♀	n
N	♂	nn
Sch	♀	nn
R	♂	nn
S	♀	nn
S	♀	n

n nüchtern

nn nicht nüchtern

S Serum

V Vollblut

1. Brigham, M., Stein, W.H. und Moore, S.: The concentration of cystein and cystin in human blood plasma. J. Clin. Invest. 40, 1633 (1960).
2. Condsen, R., Gordon, A.H. and Martin, A.J.P.: Qualitative analysis of proteins: a partion chromatographic method using paper. Biochem. J. 38, 224 (1944).
3. P. Dahr und M. Kindler: Transfusionspæaxis F.-K. Schattauer-Verlag Stuttgart (1963).
4. Elsdén, S.R., and Synge, R.L.M.: Starch as a medium for partition chromatography. Biochem. J., 38 9 (1944).
5. Gerok, W.: Quantitative Bestimmung der freien und gebundenen Aminosäuren im Blutserum durch Elutionschromatographie an Ionenaustauschern. Klin. Wschr. 38, 1212 (1960).
6. Hamilton, P.B., and D.D. van Slyke: The gasometric determination of free amino acids in blood filtrates by the ninhydrincarbon dioxide method. J. biol. Chem. 150, 231 (1943).
7. Hamilton, P.B.: Ion exchange chromatography of amino acids. Effect of resin particle size on column performance. Anal. Chem. 30 914 (1958).
8. Hannig, K.: Erfahrungen mit der quantitativen Aminosäurebestimmung an Ionenaustauschersäulen und automatischer Registrierung der Ergebnisse. Clin. Chim. Acta 4, 51 (1959).

9. Hinsberg - Lang : Medizinische Chemie, 3. Aufl.
Urban, Schw. (1957)
10. Knauff, H.G., P. Dieterle und H. Zickgraf:
Quantitative Bestimmung von 21 freien Plasma-
Aminosäuren bei gesunden Versuchspersonen.
Hoppe - Seylers Z. Physiol. Chem. 316, 186
(1959).
11. Kuhn, R. und Lederer, E.: Zerlegung des Carotins
in seine Komponenten. Ber. dtsh. chem. Ges. 64
1349 (1931).
12. Lang, F.J. Feinen und H.D. Cremer: Die Be-
ständigkeit der Eiweissfraktionen und Fermente
in lange gelagerten menschlichen Serumkonserven.
Klin. Wschr. 29, 217 (1951).
13. Linneweh, F. und Ehrlich, M.: Die renalen und
praerenalen Störungen des Aminosäurestoff-
wechsels bei phenylarmer Ernährung. Kli. Wschr.
38, 904 (1960).
14. Linneweh, F. und Ehrlich, M.: Zur Pathogenese
des Schwachsinnens bei Phenylketonurie. Kli.
Wschr. 40, 225 (1962).
15. Linneweh, F., Ehrlich, M. und Bickel, H.:
Über den unterschiedlichen Einfluß des Aceta-
zolamids (Diamox) auf die Ausscheidung der
Aminosäuren bei Gesunden und bei Cystinurie.
Kli. Wschr. 39, 354 (1961).
16. Linneweh, F. und Ehrlich, M.: Heterozygoten-Test
für die Ahornsirupkrankheit. (Maple syrup urine
disease). Kl. Wschr. 41, 255 (1963).

17. Mahr, C.: Anorganisches Grundpraktikum 2.
völlig neu bearbeitet Aufl. Verlag Chemie (1961).
18. Martin, A.J.P. and Synge, R.L.M.: A new form
of chromatogramm employing two liquid phases.
1. A theorie of chromatography 2. Application
to the micro-determination of the higher
monoamino-acids in proteins. Biochem. J., 35,
1358 (1941).
19. Martin, A.J.P. and Synge, R.L.M.: Analytical
chemistry of the proteins. Advances in Protein
Chem. II. 1 (1945).
20. Moore, S., and Stein, W.H.: Photometric
ninhydrin method for use in the chromatography
of amino acids. J. biol. Chem. 176, 367 (1948).
21. Moore, S. and Stein, W.H.: Chromatography of
amino acids on starch columns. Solvent mixtures
for the fractionation of protein hydrolysates.
Biol. Chem. 178, 53 (1949).
22. Moore, S. and Stein, W.H.: Chromatography of
amino acids on sulfonated polystyrene resins.
J. biol. Chem. 192, 663 (1951).
23. Moore, S. and Stein, W.H.: A modified ninhydrin
reagent for the photometric determination of
amino acids and related compounds. J. biol.
Chem., 211, 907 (1954).
24. Moore, S. and Stein, W.H.: Procedures for the
chromatographic determination of amino acids on
four per cent cross- linked sulfonated, polystyrene
resins. J. biol. Chem., 211, 893 (1954).

25. Moore, S., Spackmann, D.H., Stein, W.H.:
Automatic recording apparatus for use in the
chromatography of amino acids. *Feder. Proc.*,
17, 1107 (1958).
26. Moore, S., Spackmann, D.H., Stein, W.H.:
Chromatography of amino acids on sulfonated
polystyrene resins. *Anal. Chem.*, 30, 1185 (1958).
27. Oepen, H., und I. Oepen: Vergleich der Amino-
säurespektren unterschiedlich enteweißter
Blutseren. *Klin. Wschr.* 41, 921 (1963).
28. Oepen, H., und I. Oepen: Elutionschromato-
graphischer Serum-Plasma-Vergleich.
Klin. Wschr. 41, 1048 (1963).
29. Ruhemann, S.J.: Triketohydrindene Hydrate.
III Its relation to alloxan
IV Hydrindantin and its analogues
V The analogues of uramil and purpuric acid.
J. Chem. Soc., 99, 792, 1306, 1486 (1911).
30. Syngé, R.L.M.: Analysis of a partial hydrolysate
of gramicidin by partition chromatography with
starch. *Biochem. J.*, 38, 285 (1944).
31. Darrel H., Spackmann, Stein, W.H. and Moore, S.:
Automatic recording apparatus for use in the
chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*,
30, 411 (1958).
32. Stein, W.H. and Moore, S.: Chromatography of
amino acids on starch columns. Separation of
phenylalanin, leucine, isoleucine, methionine,
tyrosine and valine. *Biol. Chem.* 176, 337 (1948).

33. Stein, W.H. and Moore, S.: The free amino acids of human blood plasma. J. biol. Chem., 211, 915 (1954).
34. Strumia, M.D., John J. McGraw, jr, M.D., and Gilman E. Heggstad, M.D.: Preservation of dried and frozen plasma over a ten-year period. American journal of clinical pathology. Am. J. Clin. Path., 22, 313 (1952).
35. Tiselius, A.: Adsorption analysis of amino acid mixtures. Adv. Prot. Chem. III, 67 (1947).
36. Tswett, M.: Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls. Ber. deutsch. bot. ges. 24, 361, (1906).
37. Turba, F., Chromatographische Methoden in der Proteinchemie. Springer Verlag (1954)
38. Turba, F.: Chromatographie der basischen Aminosäuren an Bleicherden. 1. Mitteil.: Über das Adsorptionsverhalten von Eiweiß-Spaltprodukten. Ber. deutsch. chem. Ges. 74, 1829 (1941)
39. Waldschmidt - Leitz, E. und Turba, F.: Verfahren der Trennung von Peptidgemischen. J. prakt. Chemie 156, 55 (1940).
40. Wollaston, W.H.: On cystic oxide, a new species of urinary calculus. Phil. Trans. 100, 223 (1810)
41. Zechmeister, L. und Tuzson, P.: Umkehrbare Isomerisierung von Carotiden durch Jod-Katalyse. Ber. deutsch. chem. Ges. 72, 1340 (1939).

Herrn Professor Dr. G.G. Wendt danke ich für
den mir in seinem Institut zur Verfügung ge-
stellten Arbeitsplatz.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn und Frau Dr.
Oepen dafür, daß sie mich mit wertvollen Rat-
schlägen bei der Durchführung dieser Arbeit
unterstützten.

Lebenslauf

Am 28. April 1937 wurde ich als Tochter des Pfarrers Gerhard Langbein und seiner Ehefrau Charlotte geb. Gruppe in Sondershausen/Thür. geboren. Nach Grundschulbesuch in Linda bei Neustadt/Orla und Sondershausen und Besuch des Lyceums in Eschweiler/Aachen und Neuspr. Mädchengymnasium in Stift Keppel bestand ich am 15. März 1958 mein Abitur an der Elisabethschule in Marburg. Ich studierte in Marburg und Wien und legte am 19.2.1965 mein Med. Staatsexamen ab.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren

Professoren und Dozenten:

In Marburg:

Beckmann, G.; Berendes, J.; Bock, H.E.; Braun-Falco, O.;
Bücher, Th.; Buchholz, R.; Dimroth, K.; Exner, G.; Förster
A.; Gedik, P.; Gross, R.; Hamm, J.; Hartmann, F.; Hensel
H.; Hildebrandt, G.; Hornung, H.; Huber, H.; Jacob, H.;
Lang, N.; Linneweh, F.; Lübbers, D.W.; Mahr, C.; Marx,
H.; Martini, G.A.; Mattes, O.; du Mesnil de Rochemont,
R.; Müller, H.A.; Niessing, K.; Neubauer, H.; Oehme, J.
Oehmig, H.; Oksche, F.; Petry, G.; Pirson, A.; Sauer,
H.; Seidel, F.; Siegert, R.; Siess, M.; Schmid, H.;
Schmitz, H.; Schölmerich, P.; Straub, W.; Streicher, H.
Stein, E.; Schwaiger, M.; Walcher, W.; Wendt, G.G.;
Würterle, A.

In Wien:

Antoine, Kucsko, Kunz, Langer, Lauda, Moritsch,
Neuhold, Novotny, Orbidisch-Mayer, Reimer, Swobo-
da, Tappeiner.

